

산사 및 마늘 분말이 한우암소의 이산화탄소 및 메탄 발생량에 미치는 영향

김두리 · 하재정 · 송영한*

강원대학교 동물생명과학대학

Effect of Dietary Supplementation of Garlic and May Flower Powder on CO₂ and CH₄ Emission by Hanwoo Cow

Du Ri Kim, Jae Jung Ha and Young Han Song*

College of Animal Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effects of dietary garlic and may flower powder on CO₂ and CH₄ emission by Hanwoo cows fed TMR (Total Mixed Ration) based diet. Animals were housed in a hood-type respiration chamber and the environmental temperature was maintained at 20°C. Gases were measured for 24 hours using the multi-detector instrument gas monitoring system (Mamos-300, Australia). The treatments composed of groups with no intake of garlic and may flower powder (Control), with intake of garlic at 0.5% of DM (T1), with intake of garlic at 1% of DM (T2), with intake of may flower at 0.5% of DM (T3), with intake of may flower at 1% of DM (T4), with intake of garlic and may flower at 0.5% of DM (T5) and with intake of garlic and may flower at 1% of DM (T6). The results indicated that CO₂ emission in T3 was 53% lower than that of control ($p < 0.05$), and CH₄ emissions was 57% lower than control ($p < 0.05$). Also, the hourly pattern of CO₂ and CH₄ emissions in T3 showed the least difference with all treatments. Gas emissions pattern peaked after 1 hour of feeding and this gap was wider in the afternoon than in the morning hours.

(Key words : Carbon dioxide, Garlic, Hanwoo, May flower, Methane)

서 론

이산화탄소 (CO₂), 메탄 (CH₄), 아산화질소 (N₂O), 과불화탄소 (PFCs), 수소불화탄소 (HFCS) 그리고 불화유황 (SF₆)은 잘 알려진 6대 온실가스이다 (교토의정서, 2005). 대기권에서 CO₂, CH₄ 및 N₂O와 같은 온실가스가 축적되어 지구 표면 온도를 상승시키는데 (Moss 등, 2000) 이들 가스가 축적되는 양이 매년 0.3~0.9%의 비율로 증가한다 (Desjardins 등, 2001). 이 중에서 축산분야의 주요 온실가스는 CH₄으로 특히 반추동물에 의해 방출되는 CH₄의 양은 지구에서 발생하는 총 CH₄ 발생량의 약 23~27%를 차지하는 연간 81~92톤에 달한다 (IPCC, 2007). 반추동물의 반추위에서 혐기 발효에 의해 생성되는 CH₄은 숙주동물에서 2~15%의 총에너지 손실을 일으키고, 따라서 섭취한 사료가 대사 에너지로 전환되는 양이 감소하게 된다. 또한, CO₂는 온실가스 중 절대량이 가장 많은 비중을 차지하지만 CH₄의 경우 같은 농도의 CO₂에 비해 영향력이 21배 정도 높기 때문에 (GIR, 2005) 양은 적지만 지구온난화에 미치는 영향은 무시할 수 없다.

이에 따라 온실가스를 저감시키기 위한 다양한 연구들로서 사료

의 급여수준 (Shibata 등, 1992; Shibata 등, 1993), 사료의 양과 질 (Sekine 등, 1986; Shibata 등, 1992; Johnson과 Johnson, 1995), 프로토조아의 제거 (Whitelaw, 1984; Itabashi 등, 1994)에 관한 연구 및 다양한 첨가제 급여 (Kongmun 등, 2011) 등에 대한 보고가 지속되고 있다. 이에 따라 국내에서도 최근 한우에서의 CH₄ 발생량에 관한 연구가 시작되었는데, 농후사료와 조사료의 급여비율 및 조사료의 질에 따른 온실가스 발생량 연구 (Ha 등, 2009), 사료급여수준에 따른 CH₄ 발생량에 관한 연구 (Kim 등, 2011), 곡물사료원에 따른 CH₄ 발생량에 관한 연구 (Seol 등, 2012) 등이 지속되고 있다.

따라서 본 실험은 허브류, 약용식물 및 채소류에서 *in-vitro* 실험을 통해 반추위액내 사료 소화율을 저해시키지 않고 CH₄ 발생의 저감 효과를 보인 마늘 (garlic) 및 산사 (may flower)를 배합물질로 선정하여 섬유질배합사료로 실험에 공시하였다 (송, 2012). 배합물질 중 마늘은 이미 동물과 사람에게 항암효과, 항산화작용, 항균작용, 혈압저하, 콜레스테롤 저하효과가 있다고 알려져 있다 (Park, 2010). 이를 반추가축에 이용하여 CH₄을 줄이기 위한 연구가 시도되고 있지만 (Garcia 등, 2008; Kongmun 등, 2010), 소에서는 사

* Corresponding author : Young Han Song, Dept. of Animal Life System, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea. Tel: +82- 33-250-8617, E-mail: yhsong@kangwon.ac.kr

양실협이 전무한 실정이다. 배합물질 중 산사는 장미과의 진한 빨간색 능금 같은 과실로 예로부터 생약 및 한방약으로써 이용되었으며 최근 혈소판 응집억제 작용, 항산화 활성, 활성산소 소거능에 대한 기능이 밝혀진 바 있다(Lee, 2004). 따라서 본 실험은 마늘 및 산사 분말을 첨가한 섬유질배합사료 급여가 한우 암소의 온실가스 발생량에 미치는 영향을 구명하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 시험장소

본 실험은 2011년 09월부터 2011년 12월까지 4개월간 진행되었으며 실험동물은 54개월령의 평균 체중 375 ± 10 kg의 반추위 cannula가 장착된 한우 암소 4두를 공시하여 강원대학교 동물생명과학대학 내 중보보령관 대가축 실험동에서 수행하였다(Fig. 1).

2. 시험사료 및 시험축의 사양관리

시험사료는 시판 번식우 섬유질배합사료와 마늘 및 산사분말 첨가 섬유질배합사료를 번식우 사양프로그램(한우사양표준, 2007)에



Fig. 1. Respiratory chamber of hood-type.

따라 하루 8 kg씩 섭취하도록 제한 급여하였으며 사료급여 후 잔량을 확인 후 다음사료를 급여토록 하였다. 공시사료의 배합비율 및 화학 조성은 Table 1과 같다. 사료배합에 첨가된 배합물질은 시판 중인 국내산 원료로 배합하였으며, 농후사료와 조사료의 비율은 시판 섬유질배합사료에 맞춰 농후사료 : 조사료 = 6 : 4의 비율로 배합하여 공시하였다. 사료급여는 오전 8시 30분과 오후 5시 30분에 일일 2회로 나누어 급여하였고 물과 미네랄 블록은 자유섭식 할 수 있도록 하였다.

Table 1. Ingredient and chemical composition of experimental diet

Ingredient composition	Treatment (%)						
	C	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Alfalfa	20.2	20	20	20	20	20	20
<i>Aspergillus sp.</i>	3	3	3	3	3	3	3
Corn	15.2	15.5	15	15.5	15	15	14
Corn gluten feed	7.7	8	8	8	8	8	8
Garlic powder	—	0.5	1	—	—	0.5	1
Lysine	4	4	4	4	4	4	4
May flower powder	—	—	—	0.5	1	0.5	1
Molasses	3.2	2	2	2	2	2	2
Palm kernel cake	5	5	5	5	5	5	5
Salt	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Soy sauce cake	4.4	5	5	5	5	5	5
Rice wine lee	10	10	10	10	10	10	10
Tall fescue	20.2	20	20	20	20	20	20
Trace elements	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Wheat bran	6	6	6	6	6	6	6
Total	100	100	100	100	100	100	100
Chemical composition	%, of DM						
Crude protein	14.32						
Ether extract	2.96						
Crude fiber	11.95						
Neutral detergent fiber	28.72						
Acid detergent fiber	12.30						
Crude ash	7.07						

3. 시험구 처리

시판 섬유질배합사료 중 마늘과 산사의 첨가수준에 따른 시험구 처리는 마늘과 산사를 첨가하지 않은 시판 섬유질배합사료를 급여한 대조구(C), 마늘을 건물기준 0.5% 첨가한 섬유질배합사료 처리구(T1), 마늘을 건물기준 1% 첨가한 섬유질배합사료 처리구(T2), 산사를 건물기준 0.5% 첨가한 섬유질배합사료 처리구(T3), 산사를 건물기준 1% 첨가한 섬유질배합사료 처리구(T4), 마늘 및 산사를 0.5%씩 첨가한 섬유질배합사료 처리구(T5), 마늘 및 산사를 1%씩 첨가한 섬유질배합사료 처리구(T6)으로 구분하였다.

4. 호흡가스의 측정

(1) Hood-type chamber

가스측정은 Hood-type chamber를 이용하여 호흡대사 실험을 실시하였다(Fig. 1). Hood-type chamber에 입식이 되었으며 사료조와 자동 음수기가 설치되어 있는 호흡챔버를 이용하였다. Hood는 투명한 아크릴판으로 밀봉되어 있어 시험축의 상태를 항상 관찰할 수 있도록 설계되었다.

(2) 가스다중검출기를 이용한 CO₂와 CH₄ 측정

시험개시 전 30분간 외부공기를 유입시켜 조정점을 맞춘 후 챔버 내 가스농도를 측정하여 24시간 동안의 발생량을 측정하였다. 가스검출기 및 측정원리는 Fig. 2와 같다. 온실가스 측정은 NDIR(Non-dispersive infrared absorption) 센서를 이용한 가스 다중검출기를 이용하였다. CO₂나 CH₄ 등의 가스상 물질들이 적외선(Infrared light)에 대해 특정한 스펙트럼을 갖는 것을 이용해서 측정성분의 농도를 구하는 방법으로 대기의 오염물질을 연속적으로 측정하는 비분산 정필터형 적외선 가스분석계에 대해 적용한다. 원리는 광원(Infrared source)에서 방출되는 넓은 파장의 IR 복사선이 광학선택(Gas filter wheel)에서 광학필터(Bandpass filter)를 거치며 특정 IR파장을 불활성 기체(N, Ar)가 충전된 기준 셀과 시료가 흐르는 시료 셀을 번갈아 통과시키게 되는데 기준셀은 IR 파장이 모두 통과하고 시료셀에서는 가스에 의해 흡수가 일어나

된다. 이때의 흡수도를 검출기(IR Detector)에서 검출하고 변환, 증폭한 후 농도를 측정하여 CO₂ 및 CH₄의 발생량을 측정하였다.

5. 통계분석

시험에서 얻어진 모든 분석치는 각 처리구별로 평균치를 평균 ± 표준오차(mean ± SE)로 표시하였으며, 분석치의 유의성 검정은 SAS 9.1 Package/PC software(SAS, 2003) 프로그램을 이용하여 ANOVA(Analysis of variance) 분석 후 Duncan의 다중검정(Multiple range test)에 의해 처리간의 유의성을 검정하였다.

일괄적으로 공시사료를 급여 후 시험처리구별로 7일간의 예비시험을 통해 시험사료를 적응시킨 후 처리별 5반복으로 연속하여 호흡가스를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. CO₂와 CH₄ 발생량

마늘 및 산사 분말 첨가 섬유질배합사료 급여에 따른 시간당 CO₂와 CH₄ 발생량은 Table 2와 같다. CO₂ 발생량은 전체적으로 시판 섬유질 배합사료를 급여한 대조구보다 낮은 경향을 보였으며, 산사를 0.5% 단일 첨가한 처리구 3과 마늘을 1% 단일 첨가한 처리구 2에서 유의적으로 낮았다(p<0.05).

CH₄ 발생량 또한 전체적으로 시판 섬유질 배합사료를 급여한 대조구보다 낮았으며, 산사를 0.5% 단일 첨가한 처리구 3과 마늘을 1% 단일 첨가한 처리구 2에서 가장 유의적으로 낮았다(p<0.05). 면양에서의 마늘분말 첨가급여 실험에서 0.5%의 마늘 급여구에서 사료섭취량 당 CH₄ 발생량의 32% 감소했다는 보고(Park, 2010)와 마늘가루의 *in-vitro* 실험에서 CH₄ 발생량이 22% 저감 한다는 결과와도 유사하였다(Kongmun 등, 2010). 또한, CO₂ 발생량과 CH₄ 발생량은 양의 상관관계를 이루는데, 이는 사료섭취가 일어나면 반추위 내로 들어온 단백질, 전분, 세포막 중합체 등은 bacteria, protozoa, fungi 등의 1차 분해 미생물들에 의해 분해되어 당과 아미노산 등을 생성하고 이러한 생성물들은 1차, 2차 분해 미생물들

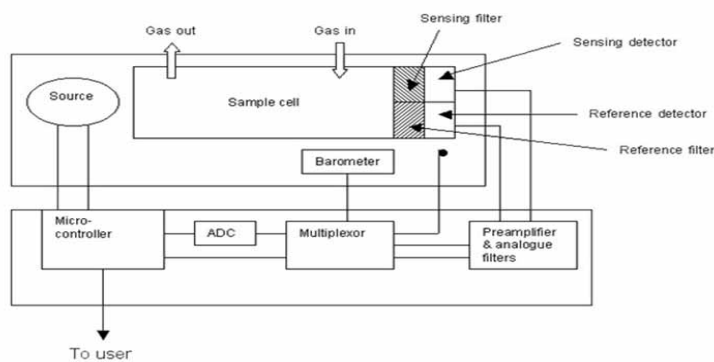


Fig. 2. Methods of measuring greenhouse gases and gas monitoring system (Mamos-300, Australia).

Table 2. Effect of garlic and may flower powder in total mixed ration on CO₂ and CH₄ emission in Hanwoo

Item (g/h)	Control	T1 ²⁾	T2 ³⁾	T3 ⁴⁾	T4 ⁵⁾	T5 ⁶⁾	T6 ⁷⁾
CO ₂	112.52 ± 4.36 ^{1a}	88.20 ± 6.56 ^{cd}	75.86 ± 4.98 ^e	52.06 ± 5.05 ^f	82.97 ± 5.04 ^{de}	94.03 ± 5.42 ^c	101.36 ± 5.60 ^b
CH ₄	4.91 ± 0.52 ^a	4.24 ± 0.87 ^b	2.54 ± 0.55 ^{de}	2.04 ± 0.43 ^e	2.88 ± 0.48 ^d	3.98 ± 0.56 ^{bc}	3.69 ± 0.52 ^c

¹⁾ Means ± SD

²⁾ 0.5% of garlic, ³⁾ 1% of garlic, ⁴⁾ 0.5% of may flower, ⁵⁾ 1% of may flower, ⁶⁾ 0.5% of garlic and may flower, ⁷⁾ 1% of garlic and may flower.

a,b,c,d,e Means in the same low with different letter(s) differ (p<0.05).

에 의해 다시 VFA, H, CO₂로 분해된다(Hungatr 등, 1970; Whitman 등, 1992). 이때 CH₄ 발생균은 생성된 분해산물 중 H와 formate를 기질로 이용하여 CH₄를 발생시키게 됨으로써 나타나는 결과라고 사료된다.

2. CO₂와 CH₄ 발생 패턴

Fig. 3은 마늘분말의 첨가수준에 따른 섬유질배합사료 처리구의 시간대별 CO₂와 CH₄의 24시간 발생패턴을 나타낸 그래프이다. 마늘분말의 단일 처리구에서 가스 발생량은 적었지만 패턴은 급격한 양상을 보였다. 또한, 마늘분말의 첨가수준을 높였을 때 가스발생 패턴은 더 안정적으로 나타났다. 전체적으로 마늘분말 첨가 섬유질 배합사료 급여에 따른 CO₂와 CH₄의 발생 패턴은 매우 유사하였으며, 특히 사료급여 후 한 시간 동안 높은 수준의 가스발생을 보이다가 2시간 후 차츰 감소하였다. CH₄의 발생 패턴은 밤 시간대보다 낮 시간대에 더 현저한 차이를 보였는데 이는 대사가 활발한 낮 시간대에 소의 반추행동이 활발해지면서 기인된 CH₄ 생성과 반추행동은 밤보다 낮에 많이 한다는 보고(Jeon, 1988)와 동일한 경향

으로 판단된다.

Fig. 4는 산사분말의 첨가수준에 따른 섬유질배합사료 처리구의 시간대별 CO₂와 CH₄의 24시간 발생패턴을 나타낸 그래프이다. T3에서 가스 발생이 가장 현저하게 감소하였지만, 산사분말의 처리수준을 1%로 높인 T4에서 가스발생량은 증가하였다. 산사분말의 처리구는 타 처리구에 비해 CO₂ 및 CH₄ 발생량 패턴에서 급격한 변화양상은 보이지 않았으며 시간당 발생량에서도 T3에서 가장 변화가 적었다. 특히, 타 처리구들의 사료급여 후 급격한 가스발생 패턴이 나타나지 않았다. 이는 산사와 CH₄ 기전에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Fig. 5는 산사 및 마늘분말의 혼합 첨가수준에 따른 섬유질배합사료 처리구의 시간대별 CO₂와 CH₄의 24시간 발생패턴을 나타낸 그래프이다. 산사 및 마늘분말의 혼합 처리구에서 가스발생 패턴은 전체적으로 매우 유사한 양상을 보였으며 타 단일 처리구에 비해 각 처리구별로 일정한 패턴이 나타났다. 또한 하루 중 사료급여 후 한 시간에서 두 시간동안 가장 높은 수준의 가스발생이 나타났다. 가스발생량은 대조구에 비해 낮았지만 마늘 및 산사분말의 단일 처리구에 비해서는 높았다. 하지만 마늘 및 산사분말의 혼합 첨가수준이

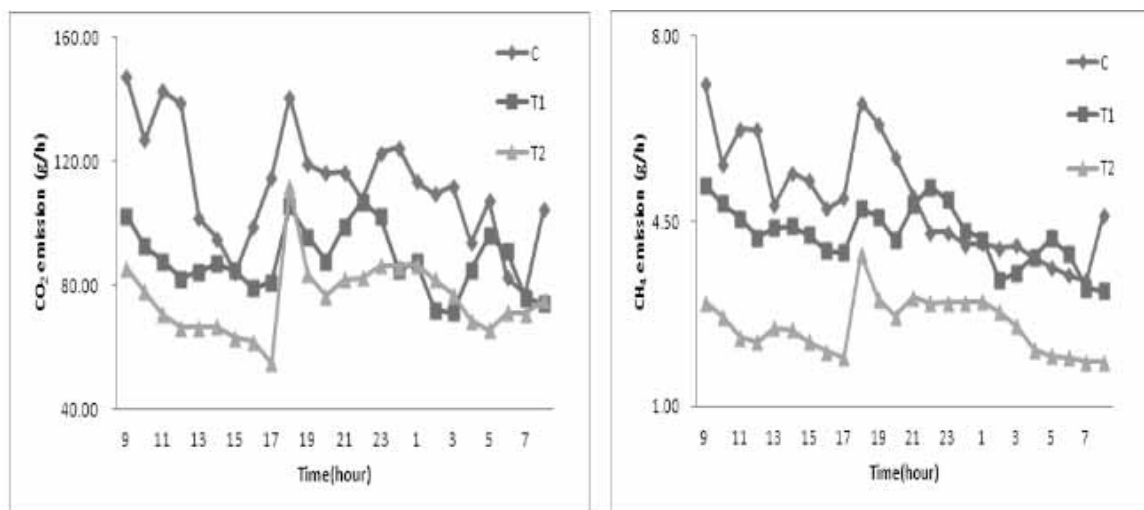


Fig. 3. Change of CO₂ and CH₄ emission rates in Hanwoo.

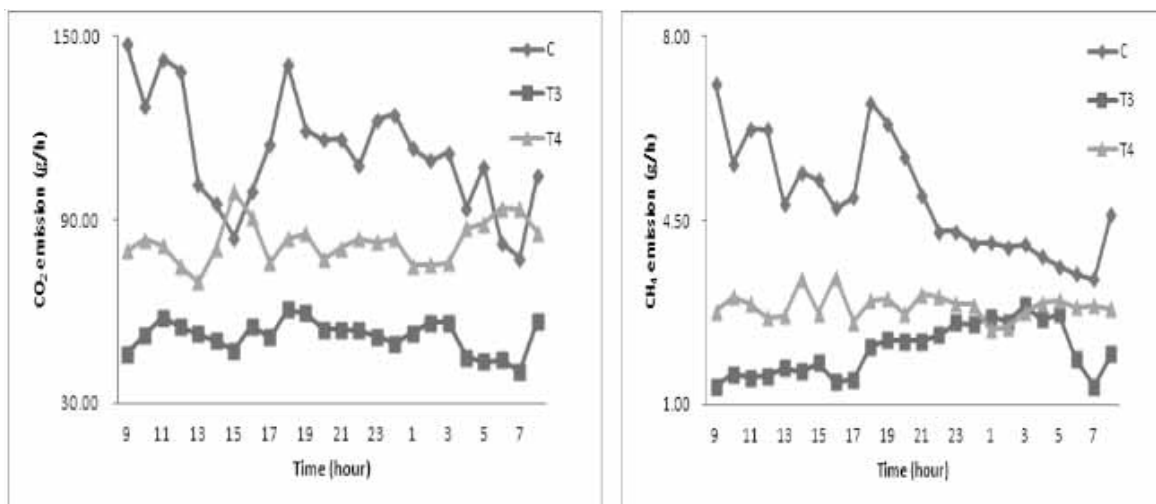


Fig. 4. Change of CO₂ and CH₄ emission rates in Hanwoo.

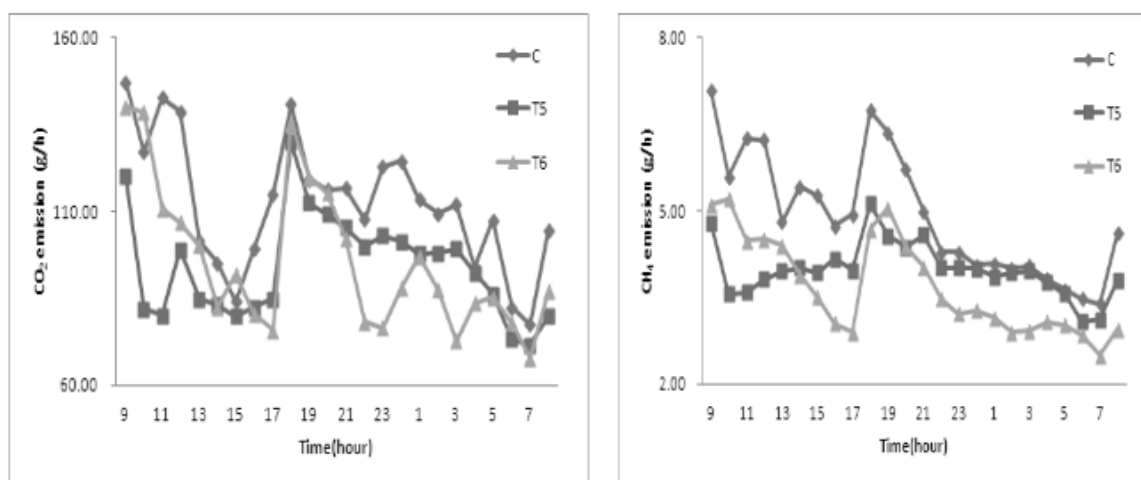


Fig. 5. Change of CO₂ and CH₄ emission rates in Hanwoo.

0.5%인 T5 보다 1%인 T6에서 CH₄ 발생은 7% 정도 감소하였다. 마늘 및 산사분말의 혼합으로 CH₄ 저감의 시너지 효과를 보기 위해 선택 첨가수준에 따른 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

본 실험은 *in-vitro* 실험을 통해 반추위 발효 성상에서 채소류 및 약용식물 중 사료 소화율을 저해시키지 않고 CH₄ 발생의 저감 효과를 보인 마늘과 산사를 시험물질로 선정하여 섬유질배합사료로 공시한 후 CO₂ 및 CH₄ 발생량에 미치는 영향을 조사하기 위해 실시하였다. 시험기간은 3개월간 진행되었으며 반추위 cannula가 장착된 한우 암소 4두를 공시하였다. 호흡가스의 측정에는 Hood-type chamber를 이용하여 다중가스검출기를 통해 24시간 동안의 호흡 대사시험을 실시하였으며 챔버 내 환경온도는 20°C를 유지하였다. 시험처리기는 마늘과 산사를 첨가하지 않은 시판 섬유질배합사료를

급여한 대조구(C), 마늘을 건물기준 0.5% 첨가한 섬유질배합사료 처리구(T1), 마늘을 건물기준 1% 첨가한 섬유질배합사료 처리구(T2), 산사를 건물기준 0.5% 첨가한 섬유질배합사료 처리구(T3), 산사를 건물기준 1% 첨가한 섬유질배합사료 처리구(T4), 마늘 및 산사를 0.5%씩 혼합 첨가한 섬유질배합사료 처리구(T5), 마늘 및 산사를 1%씩 혼합 첨가한 섬유질배합사료 처리구(T6)으로 구분하였다. 실험결과 CO₂와 CH₄ 발생량은 전체적으로 대조구보다 낮았다. 산사를 0.5% 단일 첨가한 처리구 3에서 가장 낮았으며 ($p < 0.05$) 시간당 발생패턴도 타 처리구들에 비해 가장 변화가 적었다. 다음은 마늘을 1% 단일 첨가한 처리구 2에서 낮게 나타났으며 ($p < 0.05$), 사료급여 후 1시간동안 급격한 변화를 나타내다가 2시간 이후부터 차츰 감소하였으며 하루 중 변화패턴과 유사하였다. 마늘 및 산사분말의 혼합으로 CH₄ 저감의 시너지 효과를 보기 위해 선택 첨가수준에 따른 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. (주제어: 마늘, 산사, 한우, 이산화탄소, 메탄)

사 사

본 연구는 농촌진흥청의 지원(과제번호 : PJ006341)과 2011년도 강원대학교 학술연구조성비로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

인 용 문 헌

- Desjardins, R. L., Kulshreshtha, S. N., Junkins, B., Smith, W., Grant, B. and Boehm, M. 2001. Canadian greenhouse gas mitigation options in agriculture. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 60:317-326.
- Garica-Gonzalez, R., Lopez, S., Fernandez, M., Bodas, R. and Gonzalez, J. S. 2008. Screening the activity of plants and spices for decreasing ruminal methane production *in vitro*. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 147:36-52.
- Greenhouse Gas Inventory and Research center of Korea. 2005. <http://www.gir.go.kr>
- Ha, J. J. and Song, Y. H. 2009. Studies on the Methane and Carbon Dioxide Generation Rates Due to Feeding Different Types of Diets in Hanwoo Cattle. *Ann. Anim. Res. Sci.* pp. 1:37-38.
- Hungate, R. E., Smith, W., Bauchop, T., Yu I. and Rabinowitz, J. C. 1970. Formate as an intermediate in the bovine rumen fermentation. *J. Bacteriol.* 102:389-397.
- IPCC. 2007. Climate Change 2007. Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the IPCC.
- Itabashi, H., Washio, Y., Takenaka, A., Oda, S. and Ishibashi, J. 1994. Effects of a controlled fauna on methanogenesis, fiber digestion and rate of growth in calves. *Proc. soc. nutr. physiol.* 3:179.
- Jeon, B. T. 1988. Variability of the Rumination-Behaviour in Steers fed a Constant Amount of Hay. *J. Korean Grassl. Sci.* 8:68-76.
- Johnson, K. A. and Johnson, D. E. 1995. Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 73:2483-2492.
- Kim, D. R., Ha, J. J., Kim, J. T. and Song, Y. H. 2011. Evaluation on the Greenhouse Gas Emission According to the Intake Levels of Total Mixed Rations of Hanwoo Cow. *J. Anim. Sci. and Technol. (Kor.)*. 53:475-480.
- Kongmun, P., Wanapat, M., Pakdee, P. and Navanukraw, C. 2010. Effect of coconut oil and garlic powder on *in-vitro* fermentation using gas production technique. *Livestock Sci.* 127:38-44.
- Kongmun, P., Wanapat, M., Pakdee, P., Navanukraw, C. and Yu, Z. 2011. Manipulation of rumen fermentation and ecology of swamp buffalo by coconut oil and garlic powder supplementation. *Livestock Sci.* 135:84-92.
- Lee, H. J. 2004. About the functionality of mayflower. *Food Technol.* 17:136-140.
- Moss, A. R., Jouany, J. P. and Newbold, J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Ann. Zootech.* 49:231-253.
- National Institute of Animal Science, RDA. 2007. Korean feeding standard for Hanwoo.
- Park, J. Y. 2010. Effect of garlic powder on intake, digestibility, nitrogen balance, blood composition and methane production of sheep fed rice straw based diet. Kangwon national university master's degree paper.
- SAS. 2003. SAS software for PC. Release 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Seikine, J., Kondo, S., Okubo, M. and Asahida, Y. 1986. Estimation of methane production in 6-week-weaned calves up to 25 weeks of age. *Japanese J. Zootech. Sci.* 57:300-304.
- 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. *J. Anim. Sci. and Technol. (Kor.)*. 54:15-22.
- Shibata, M., Terada, F., Iwasaki, K., Kurihara, M. and Nishida, T. 1992. Methane production in heifers, sheep and goats consuming diets of various hay-concentrate rations. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 63:1221-1227.
- Shibata, M., Terada, F., Kurihara, M., Nishida, T. and Iwasaki, K. 1993. Estimation of methane production in ruminants. *Anim. Sci. and Tech.* 64:790-796.
- Song, Y. H. 2012. Establishment of control technology of rumen fermentation physiology for sustainable Hanwoo raising. Rural Development Administration. p. 51-53.
- United Nations Framework Convention on Climate Change. 2005. Kyoto Protocol to the United Nations Framework Convention on Climate Change.
- Whitelaw, F. G., Eadie, J. M., Bruce, L. A. and Shand, W. J. 1984. Methane formation in faunated and ciliate-free cattle and its relationship with rumen volatile fatty acid proportions. *Br. J. Nutr.* 52:261-275.
- Whitman, W. B., Bowen, T. L. and Boone, D. R. 1992. The methanogenic bacteria. In: *The Prokaryotes*. Ed. Truper, H. G. et al. Springer-Verlag, New York.

(Received May 4, 2012; Revised Oct. 23, 2012; Accepted Oct. 24, 2012)