

ANIMAL

Changes in ruminal fermentation and blood metabolism in steers fed low protein TMR with protein fraction-enriched feeds

Chang Weon Choi*

Department of Animal Resources, Daegu University, Gyeongsan, Gyeongbuk 38453, Korea

*Corresponding author: changchoi@daegu.ac.kr

Abstract

Four ruminally cannulated Holstein steers (BW 482.9 ± 8.10 kg), fed low protein TMR (CP 11.7%) as a basal diet, were used to investigate changes in rumen fermentation and blood metabolism according to protein fraction, cornell net carbohydrates and protein system (CNCPS), and enriched feeds. The steers, arranged in a 4 × 4 Latin square design, consumed TMR only (control), TMR supplemented with rapeseed meal (AB1), soybean meal (B2), and perilla meal (B3C), respectively. The protein feeds were substituted for 23.0% of CP in TMR. Ruminal pH, ammonia-N, and volatile fatty acids (VFA) in rumen digesta, sampled through ruminal cannula at 1 h-interval after the morning feeding, were analyzed. For plasma metabolites analysis, blood was sampled via the jugular vein after the rumen digesta sampling. Different N fraction-enriched protein feeds did not affect ($p > 0.05$) mean ruminal pH except AB1 being numerically lower 1 - 3 h post-feeding than the other groups. Mean ammonia-N was statistically ($p < 0.05$) higher for AB1 than for the other groups, but VFA did not differ among the groups. Blood urea nitrogen was statistically ($p < 0.05$) higher for B2 than for the other groups, which was rather unclear due to relatively low ruminal ammonia-N. This indicates that additional studies on relationships between dietary N fractions and ruminant metabolism according to different levels of CP in a basal diet should be required.

Keywords: low protein TMR, protein fraction, ruminal fermentation, steer

Introduction

반추위 내 미생물은 사료의 단백질을 1차적으로 분해하고 합성하기 때문에 단백질 분해과정의 정확한 측정과 해석은 매우 어려우며(Choi, 2015), 따라서 동물영양생리학자들은 다양한 방법을 개발하고 시도하고 있다(Wallace, 1988; Choi, 2003). 미국 코넬대학교에서는 보다 정확하고 예측가능한 새로운 단백질 및 탄수화물 분해과정 측정 방법인 Cornell net carbohydrate and protein system (CNCPS)을 발표한 바 있으며, 계속해서 그 방법을 개선하고 있다(Licitra et al. 1996; Fox et al., 2004). 우리나라는 한국젖소사양표준 2차 개정판에서 CNCPS 기법을 도입하여 사료 영양소 분획과 단백질, 에너지 요구량 등을 계산하였는데(RDA, 2012), 새롭게 도입된 CNCPS 기법의 국내 현장 적용을 위해서는 국내 환경 하에서 사료자원과 반추동물에 이용한 대



 OPEN ACCESS

Citation: Choi CW. 2016. Changes in ruminal fermentation and blood metabolism in steers fed low protein TMR with protein fraction-enriched feeds. Korean Journal of Agricultural Science 43:379-386.

DOI: <http://dx.doi.org/10.7744/kjoas.20160040>

Editor: Jung Min Heo, Chungnam National University, Korea

Received: May 13, 2016

Revised: June 21, 2016

Accepted: June 27, 2016

Copyright: ©2016 Korean Journal of Agricultural Science.

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

사연구 결과를 이용하는 것이 우선되어야 함을 지적받고 있다(Choi, 2015). 특히, 단백질 분야에서 미국의 CNCPS 기법이 국내 적용되기 위해서는 CNCPS 단백질 fraction별 고함유 사료 급여 시 반추위 발효패턴 및 생체 혈액생리대사가 예측 가능한 수준이어야 한다. 그러나, 최근 연구에서 매우 낮은 수준의 조단백질(CP)이 함유된 TMR (DM기준 CP 9.63%)을 기초사료로 급여 시 CNCPS 분획 상 용해성 단백질이 높은 채종박 급여구가 비용해성 단백질이 높은 임자박 급여구보다 반추위 발효가 느리거나 차이가 없는 것으로 나타나 일반적인 CNCPS 분획 시 예측되는 결과와는 상반된 결과가 도출되었다(Choi, 2015). 이러한 결과들은 CNCPS 기법을 통한 단백질 분해과정의 정확한 측정과 그것을 국내에 적용하기 위해서는 보다 다양한 조건 하에서의 *in vivo* 시험을 통한 기초사료의 확보가 매우 절실함을 의미한다.

따라서, 본 연구에서는 낮은 수준의 CP가 함유된 섬유질배합사료(TMR)를 기초사료로 급여한 거세우를 대상으로 단백질 fractions (A, B₁, B₂, B₃ 및 C fractions; Licitra et al., 1996)별로 고함유된 사료를 선정하여 생체급여한 후 반추위 발효패턴과 혈액대사생리에 미치는 영향을 조사하였다.

Materials and Methods

CNCPS fraction별 대표사료 선정

단백질 fraction별 대표사료는 Choi (2015)에서 선정한 fraction별 사료로 선발하되, 본 연구에서 사용된 사료는 사료회사를 통해 새로 구입하였고, Licitra et al. (1996)이 제안한 분석방법에 의거하여 N fraction을 분석하였다(Table 1). Choi (2015)에서 설명한 바와 같이 국내 통용되고 있는 사료 중 단백질 fraction이 A와 B₁ fraction 및 B₃와 C fraction을 구분하여 특이적으로 높고, 동시에 다른 N fraction은 낮은 사료를 선발하기는 현실적으로 어렵기 때문에 A와 B₁ 대표사료로 채종박, B₂ 대표사료로 대두박 및 B₃와 C 대표사료로 임자박을 선정하였다.

Table 1. Nitrogen fractionation (% of CP) of experimental feeds.

Fraction ²	TMR	Rapeseed meal	Soybean meal	Perilla meal
A fraction	15.42	16.22	8.21	17.21
B ₁ fraction	4.82	12.02	6.04	8.02
B ₂ fraction	51.57	49.74	67.91	28.42
B ₃ fraction	8.27	8.63	4.69	20.31
C fraction	19.92	13.39	13.15	26.04

²Fraction was analyzed according to the method of Licitra et al. (1996).

In vivo 시험 및 분석

본 실험은 환경요인에 의한 오차를 최소화하기 위해 온도 및 습도 자동 제어 시스템을 이용, 실험기간동안 온도 24°C, 습도 60%를 유지하며 수행되었다. 외과적 수술방법으로 반추위 캐놀라를 설치한 홀스타인 거세우 4두(평균 체중 482.9 ± 8.10 kg)를 이용하여 시험 전 적응(28일)을 실시하였다. 대사시험의 특성 상 결과해석의 일관성을 위해 적응기간 동안 사료섭취량을 측정된 후 본 시험에서는 낮은 수준으로 급여하여 공시사료의 전량섭취를 유도하되, 최근 본 연구팀의 기존 연구(Choi, 2015)와의 비교를 위해, 체중대비 대조구는 2.40%, 처리구에서는 2.00 - 2.05%가 유지되도록 하였다. 대조구 및 각 처리구의 기초사료로 이용한 TMR은 저수준의 CP (건물기준 11.7%)를 함유하였다. 시험설계는 Choi (2015)의 방법과 동일하게 4 × 4 라틴방각법으로 TMR 급여구(대조구), TMR + 채종박 급여구 (AB1), TMR + 대두박 급여구(B2), TMR + 임자박 급여구(B3C)로 구분하였고, 각 피리어드 당 21일 총 112일(적응기 포함)동안 시험수행되었다. 처리구의 단백질 급여는 기초사료인 TMR의 CP 23%를 선발된 단백질 사료로 대체하

였다. 기타 사료섭취 및 사양관리는 Choi (2015)와 동일하게 수행되었다. 사료의 일반성분 및 ADF와 NDF 분석방법 또한 Choi (2015)에 설명하였고, 그 결과는 Table 2와 같다.

Table 2. Chemical composition of experimental feeds (% of DM basis)^x.

Composition	TMR	Rapeseed meal	Soybean meal	Perilla meal
Dry matter (DM)	65.0	90.9	90.2	97.4
Crude protein	11.7	33.8	49.2	50.7
Ether extract	6.48	7.35	0.59	14.21
Crude fiber	29.89	9.14	3.78	8.53
Crude ash	14.20	8.83	6.39	8.73
Ca	1.26	1.29	0.38	2.24
P	0.88	0.96	0.72	1.21
NDF ^y	60.7	22.4	8.4	19.2
ADF ^z	34.6	13.9	4.4	10.8

^xAll experimental steers had free access to water and a mineral block during the entire experiment.

^yNDF: neutral detergent fiber.

^zADF: acid detergent fiber.

각 피리어드 21일째 오전 사료 급여 후 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 및 8 h에 반추위 소화액을 채취하여 8겹의 cheesecloth으로 필터링한 후 즉시 pH를 측정하였고, 동시에 암모니아-N와 휘발성지방산(VFA) 측정을 위해 채취하였다. 암모니아-N 및 VFA 측정은 각각 Choi and Oh (2011) 및 Erwin et al. (1961)의 방법에 따라 분석하였다. 혈액은 각 period 반추위 소화액 채취 완료 후 17:00 h에 경정맥을 통해 10 mL의 혈액을 1회 채취한 후, 24 시간 냉장보관 후 원심분리(3,000 rpm, 15분)하여 혈장을 분리하고, 분석 시까지 -70°C 초저온 냉동고에 보관한 후, 혈액대사물질[albumin, glucose, triglyceride, creatinine, total protein 및 blood urea nitrogen (BUN)]을 자동 혈액 분석기(Modular Analytics, Roche, Germany)를 이용하여 분석하였다.

통계분석

본 실험의 자료는 SAS (2002)의 GLM (general linear model)을 이용하여 분산분석하고, 시험구 평균간 비교는 Duncan's multiple range test (5% 유의수준)로 하였다(Steel and Torrie, 1980).

Results and Discussion

단백질 fractionation

사료별 CNCPS 단백질 분획 결과, 채종박은 A와 B₁ fraction이 28.2%로 다른 단백질 사료에 비해 가장 높았고, 대두박은 B₂ fraction (67.9%), 임자박은 B₃와 C fraction이 46.3%로 다른 단백질 사료에 비해 각 fraction별로 가장 높은 비율을 보이고 있다(Table 1). 이것은 기존 연구에서 보고된 각 단백질의 N 분획과 전체적으로 유사하였으나(Licitra et al., 1996; Choi, 2003; Jin, 2011; Choi, 2015), 채종박의 경우 B₂ fraction이 A와 B₁ fraction보다 다소 높게 나타났다. 이것은 일반적으로 나타나는 채종박의 특성으로 B₂ fraction 고함유 단백질로 선발된 대두박과 비교했을 때 대두박의 B₂ fraction 함량이 높으므로 비교해석에 큰 오차를 주지 않을 것으로 판단되었다.

반추위 내 발효패턴

CNCPS N fraction별 고함유된 단백질 급여에 의한 반추위내 pH 평균 및 feeding cycle동안의 pH 패턴 변화는 통계적인 유의성은 나타나지 않았다($p > 0.05$; Table 3 and Fig. 1). 반추위 pH 패턴 변화는 사료 급여 후 시간별 pH의 감소 수준과 회복 수준을 주목해야 하는데, 본 시험에서 AB1구에서 사료 급여 후 1 - 3 h에 가장 낮은 pH를 보이는 것은 용해성 단백질 fraction 함량이 가장 높음을 고려할 때 매우 이상적인 결과라고 판단된다(Lee, 2006). 하지만, AB1구에서 급여 후 4 h 이후에도 pH 수준이 비교적 낮게 유지되는 것은 A 및 B₁ fraction은 반추위내에서 매우 빨리 분해되므로 빠르게 분해되고 빠르게 pH가 회복되어야 하는 일반적인 CNCPS 모델로는 이해하기가 어렵다(RDA, 2012). 특히, 전술한 사료 fraction 구성에서 추가 급여한 단백질 사료의 fraction이 정상적인 수준임을 감안할 때, Choi (2015)의 지적대로 기초사료의 CP수준에 따라 CNCPS 모델 적용이 달라질 수 있음을 의미하는 것으로 추측된다. 또한, B3C구의 높은 난용성 및 불용성 fraction (B₃ 및 C fraction)을 고려할 때 B3C가 B2보다 급여 후 1 - 3 h에서 pH가 낮게 나타나는 것 역시 CNCPS 모델에서 제기하는 분해율에 따른 분획과 생체 대사패턴과는 다소 차이가 있는 것으로 생각된다(Choi, 2003). 이는 유사한 사료섭취조건 하에서는 반추위 분해속도가 빠른 단백질이 다량 급여될 때 반추위 pH가 급격히 감소한다는 기존 연구와는 다소 상반된 결과이다(Lee, 2006). 다만, 반추위 pH는 급여된 CP 수준과 더불어 탄수화물 수준에도 영향을 동시에 받는다는 것을 감안할 때(Wallace, 1988; Choi, 2003), 반추위 내 암모니아-N 농도 수준과 함께 고찰해야 할 것으로 생각된다.

Table 3. Effect of protein fraction-enriched feeds on ruminal fermentation of steers fed low protein TMR.

Items	Treatments ^x				SEM ^y
	Control	AB1	B2	B3C	
Ruminal pH	6.46	6.33	6.49	6.34	0.24
Ammonia N (mg/l)	106.9b	132.3a	117.3b	117.4b	5.93
Total VFA ^z (mmoles/100 mL)	100.8	78.8	92.7	84.7	12.70
Individual VFA (mmoles/100 mL)					
Acetate	61.8	62.2	61.5	63.7	2.16
Propionate	20.1	20.5	19.2	18.5	1.79
Iso-butyrate	0.71	0.44	0.71	0.56	0.230
Butyrate	14.0	12.6	14.6	13.5	1.34
Iso-valerate	1.06	1.02	1.48	1.75	0.360
Valerate	1.49ab	2.13a	1.47ab	1.28b	0.389
Caproic acid	0.91	1.20	0.93	0.67	0.263
Acetate/Propionate	3.11	3.17	3.30	3.57	0.393

a, b: Means in a row with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

^xTreatments were TMR only (control), TMR with rapeseed meal (AB1), TMR with soybean meal (B2) and TMR with perilla meal (B3C), respectively.

^yStandard error of the mean.

^zVolatile fatty acid.

반추위 내 total VFA 및 individual VFA는 전체적으로 처리구간 유의적인 차이를 나타내지 않았다($p > 0.05$; Table 3 and Fig. 2). 다만, AB1구의 valerate 함량이 B3C구보다 유의적으로 높은 것으로 나타났으나($p < 0.05$), total VFA 함량에 비해 양적으로 미미하여 대사적으로 큰 의미를 부여하기는 어렵다고 판단된다. 결과적으로 본 시험의 VFA 농

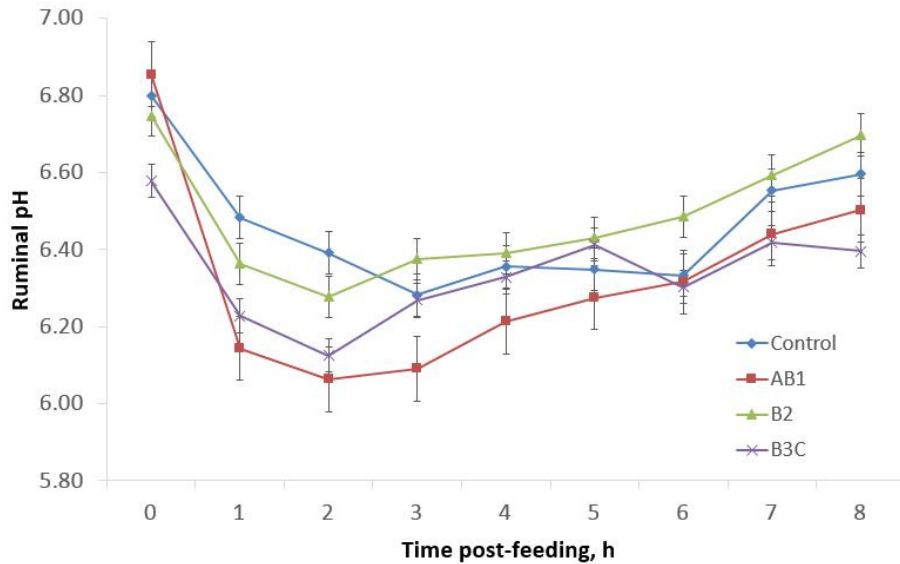


Fig. 1. Changes in ruminal pH of steers fed low protein TMR supplemented with various feeds. Treatments were TMR only (Control, ◆), TMR with rapeseed meal (AB1, ■), TMR with soybean meal (B2, ▲) and TMR with perilla meal (B3C, X), respectively.

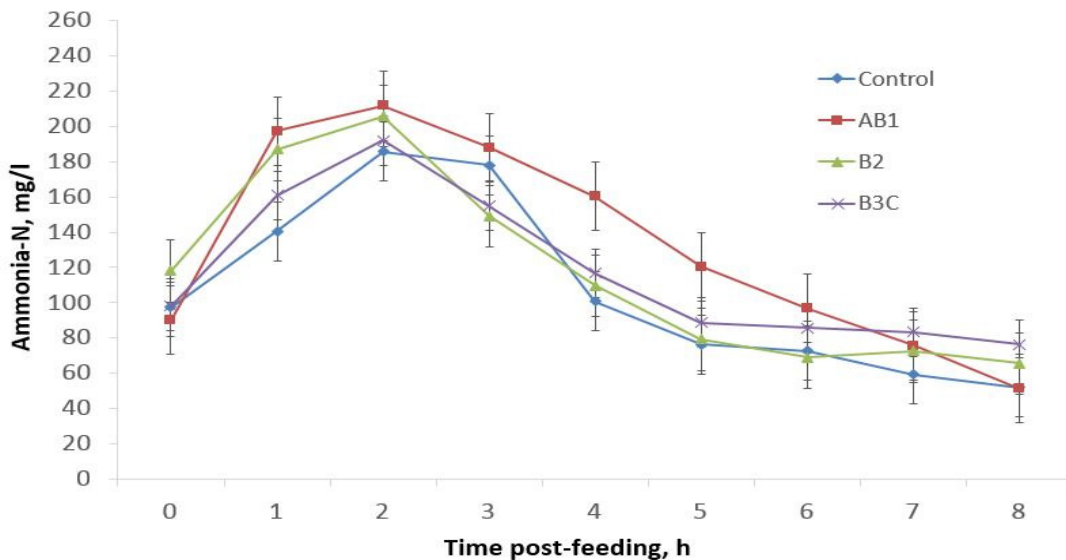


Fig. 2. Changes in ruminal ammonia N of steers fed low protein TMR supplemented with various feeds. Treatments were TMR only (Control, ◆), TMR with rapeseed meal (AB1, ■), TMR with soybean meal (B2, ▲) and TMR with perilla meal (B3C, X), respectively.

도는 사료 종류에 의한 영향이 나타나지 않는다는 기존 연구결과와 유사하였다(Pritchard and Males, 1985; Choi, 2015).

반추위 암모니아-N 농도는 용해성 단백질 fraction 함량이 높은 채종박을 급여한 AB1구에서 다른 시험구보다 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$; Table 3). Fig. 2에서 나타난 반추위 암모니아-N 패턴에서는 반추위 pH 패턴과 유사하게 사료급여 후 1 - 5 h 동안 AB1구의 암모니아-N 농도가 다른 시험구에 비해 가장 높았다. 반추위 pH 패턴에서

다소 이해하기 어려운 결과를 보였던 B2구와 B3C구의 암모니아-N 패턴은 비록 수치적이긴 하지만 사료급여 후 1-2 h에서 B2구에서 높게 나타났다. 이것은 단백질 N fractionation의 특성을 고려하면 이상적인 결과라고 사료되어 반추위 pH 패턴 결과는 전술한 바와 같이 CP 수준 뿐만 아니라 탄수화물 등 일부 다른 영양소 및 요인의 영향에 기인한 것으로 추측된다. 하지만, 두 시험구 간 3 h 이후 암모니아-N 패턴 및 평균 값의 유사함은 용해성 또는 분해성 단백질 농도(A, B₁ 및 B₂)가 높으면 반추위액 암모니아-N 농도가 증가한다고 보고한 기존 연구와 다른 결과를 보이고 있다 (Armentano et al., 1993). 본 시험과 동일한 사료 조건에서 기초사료인 TMR의 CP 수준만이 다른 본 연구팀의 기존 연구(기존 연구 9.63 vs 본 연구 11.7%)에서 암모니아-N 농도는 시험구간 유의성은 나타나지 않았으며, 수치적으로 대두박과 임자박을 급여한 처리구의 농도가 높게 나타나는 등 본 시험과는 다른 결과를 보였다(Choi, 2015). 일반적으로 반추위액 암모니아-N 농도가 50 mg/L 이상을 유지하면 정상적인 반추위 대사가 유지되었다고 감안할 때(Choi and Oh, 2011), 이러한 두 연구 간의 암모니아-N 농도 차이는 지금의 CNCPS 방법에 의한 사료 N fractionation을 국내 현실 사양에 직접적으로 적용하기에는 매우 제한적이라고 판단된다. 또한, 단백질의 *in vivo* 반추위 내 분해는 단백질 내 펩타이드 구조, 반추위 미생물의 아미노산 이용성, 단백질의 친소수성 등 CNCPS 방법의 화학시약에 의한 fractionation보다 더 다양한 요인에 의해 제한될 수 있다. 따라서, 반추위 pH 패턴에서 언급한 바와 같이 본 연구에서 사용된 기초사료의 CP 수준이나 단백질의 펩타이드 구조 등 다양한 사료 또는 생체 내 요인에서 기인할 수 있는 바 (Wallace, 1988; Wallace et al., 1990; Choi et al., 2003), 향후 기초사료의 CP수준별 추가 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

혈액대사생리

CNCPS 단백질 fraction별 고함유 사료의 급여는 BUN을 제외하고는 혈액대사물질의 농도에 유의적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다($p > 0.05$; Table 4). 혈중 albumin과 creatinine의 함량은 체내 단백질 합성 및 근육량과 연관되어 있는데, 본 실험에서 시험구 간 차이가 없다는 것은 사료 내 CP 수준이 유사할 경우 급여 단백질사료의 fraction별 차이가 체내 단백질 합성에는 영향을 미치지 않는 것을 알 수 있다(Eisemann et al., 1989; Gentry et al., 1999; Choi, 2015). 혈중 glucose, 중성지방 및 총단백질 농도 역시 단백질사료의 N fraction과의 직접적인 연관성은 찾기 어려운 것으로 나타나 본 연구팀의 최근 연구결과와 유사하였다.

Table 4. Effect of protein fraction-enriched feeds on blood metabolites of steers fed low protein TMR.

Items	Treatments ^x				SEM ^y
	Control	AB1	B2	B3C	
Albumin (g/dL)	2.53	2.66	2.64	2.73	0.35
Glucose (mg/dL)	64.92	65.33	70.17	65.92	6.71
Triglyceride (mg/dL)	13.92	14.75	16.17	15.25	4.67
Creatinine (mg/dL)	1.34	1.32	1.36	1.29	0.17
BUN ^z (mg/dL)	6.42b	9.33ab	10.50a	8.83ab	1.92
Total protein (g/dL)	4.96	4.98	5.49	5.51	1.39

a, b: Means in a row with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

^xTreatments were TMR only (control), TMR with rapeseed meal (AB1), TMR with soybean meal (B2) and TMR with perilla meal (B3C), respectively.

^yStandard error of the mean.

^zBUN: blood urea nitrogen.

BUN 농도에서는 대두박이 급여된 B2구(10.50 mg/dL)가 대조구(6.42 mg/dL)에 비해 유의적으로 높았으며($p < 0.05$), AB1구(9.33 mg/dL)과 B3C구(8.83 mg/dL)가 수치적으로 높게 나타났다. BUN은 단백질 합성 조직에서 질소 축적 현상을 의미하는 것으로(Enright et al., 1990), 반추위로 흡수되는 암모니아가 증가하면 간에서 요소합성량을 증가시켜 BUN 수치를 높이는 것으로 알려져 있다(Choi, 2015). 본 연구의 평균 반추위 암모니아-N 결과를 보면 AB1구가 유의적으로 높고, B2구와 B3C구가 유사하며, 대조구가 수치적으로 낮게 나타나는 등 다소 상반된 결과가 나타났다(Table 3). 또한, 이것은 용해성 단백질 급여가 많아질 때 반추위 암모니아-N 농도 및 BUN 농도가 증가된다는 기존 연구 결과(Armentano et al., 1993; Lee, 2006; Choi, 2015)와 비교해도 상반된 결과이다. 하지만, 제3위 소화액 샘플링 기법을 이용한 Choi (2003)와 Choi et al. (2003)의 결과에서 사료의 용해성 N fraction 역시 반추위에서 모두 이용되지 않고 반추위를 탈출한다는 점을 고려할 때, 사료의 용해성 N fraction 농도와 반추위 암모니아-N 수준 및 BUN 농도는 반드시 비례적이지 않을 수 있으며, 특히 반추동물의 사료 내 낮은 수준의 CP는 반추위 내 단백질 분해나 이용에 있어서 다른 기전이 있을 수 있음을 고려해야 할 것이다(Choi, 2015). 따라서, 전술한 바와 같이 보다 다양한 기초사료의 CP 수준별 N fraction과 반추위 생체 대사 연구가 추가적으로 필요할 것으로 생각된다.

Conclusion

본 연구는 반추위 캐놀라를 장착한 홀스타인 거세우 4두(평균체중 482.9 ± 8.10 kg)를 공시하여 CP 수준이 낮은 (CP 11.7%) TMR 급여 시 단백질 fraction별 고함유 단백질 대체공급이 반추위 발효패턴 및 혈액대사물질에 미치는 영향을 조사하고자 실시하였다. 시험처리는 4×4 라틴방각법에 의해 TMR 급여구(대조구), TMR 및 채종박 급여구(AB1), TMR 및 대두박 급여구(B2), TMR 및 임자박 급여구(B3C)로 구분하되, 처리구에 사용된 단백질은 CNCPS 분석방법에 의거 각 fraction 함량이 높은 단백질 사료를 TMR의 CP 23.0%를 각각의 단백질사료로 대체 급여하였다. 오전 사료섭취 후 1시간 간격으로 반추위 소화액을 채취하여 반추위 pH, 암모니아-N 및 휘발성지방산(VFA) 패턴을 분석하였고, 혈액대사물질은 경정맥을 통해 채취하여 분석하였다. 단백질 N fraction별 단백질사료 급여는 반추위 pH에 영향을 미치지 못하였으나($p > 0.05$), AB1구에서 사료 급여 후 1-3 h에 가장 낮은 pH를 보였다. 암모니아-N 농도는 용해성 단백질 fraction이 높은 AB1구에서 다른 시험구보다 유의적으로 높게 나타났으나($p < 0.05$), VFA 농도는 시험구간 차이가 없었다. B2구에서 유의적으로 증가한 혈중요소태질소 농도는 반추위 암모니아-N 농도와 다소 상반된 결과를 보였는데, 이는 기초사료의 CP 수준에 따른 N fraction과 반추동물 생체대사 간 관련 연구가 추가적으로 필요함을 의미한다.

Acknowledgements

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(PJ011904032016)의 지원에 의해 이루어졌습니다.

References

- Armentano LE, Bertics SJ, Riesterer J. 1993. Lack of response to degradable protein to a low protein diet fed to midlactation dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76:3755-3762.
- Choi CW. 2003. Assessment of the flow of soluble dietary non-ammonia nitrogen escaping degradation in the rumen of dairy cows fed grass silage based diets. Doctoral Dissertation, University of Helsinki. Viikki, Finland.
- Choi CW. 2015. Effects of CNCPS fraction-enriched proteins on ruminal fermentation and plasma metabolites in Holstein steers fed TMR containing low protein. *CNU Journal of Agricultural Science* 42:237-244. [in Korean]
- Choi CW, Oh YK. 2011. Effects of feeding whole crop rice silage harvested at different stages on rumen fermentation and blood

- metabolites in Hanwoo steers. *Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science* 31:191-200. [in Korean]
- Choi CW, Vanhatalo A, Huhtanen P. 2003. Effects of type of grass silage and level of concentrate on the flow of soluble non-ammonia nitrogen entering the omasum of dairy cows. *Journal of Animal and Feed Sciences* 12:3-22.
- Eisemann JH, Hammond AC, Rumsey TS, Bauman DE. 1989. Nitrogen and protein metabolism and metabolites in plasma and urine of beef steers treated somatotropin. *Journal of Animal Science* 67:105-115.
- Enright WJ, Quirke JF, Gluckman PD, Breier BH, Kennedy LG, Hart IC, Rochecoert JF, Allen P. 1990. Effects of long-time administration of pituitary-derived bovine growth hormone and estradiol on growth in steers. *Journal of Animal Science* 68:2345-2356.
- Erwin ES, Marco GT, Emery EM. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science* 44:1768-1771.
- Fox DG, Tedeschi LO, Tylutki TP, Russell JB, Van Amburgh ME, Chase LE, Pell AN, Overton TR. 2004. The Cornell net carbohydrate and protein system model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Animal Feed Science and Technology* 112:29-78.
- Gentry LR, Fernandez JM, Ward TL, White TW, Southern LL, Bidner TD, Thompson Jr DL, Horohov DW, Chapa AM, Sahu T. 1999. Dietary protein and chromium tripicolinate in Suffolk wether lambs: Hormonal responses, and immune status. *Journal of Animal Science* 77:1284-1294.
- Jin GL. 2011. Effect of protein fractionation and buffer solubility of various feed stuffs on in vitro fermentation characteristics, degradability and gas production by rumen microbes. Ph.D Dissertation, Chungbuk National University. Chungju, Korea.
- Lee SC. 2006. Effects of CP contents and levels of RDP and RUP in diets on ruminal fermentation and protein digestion in Hanwoo steers. Master thesis, Chungnam National University. Daejeon, Korea.
- Licitra G, Hernandez TM, Van Soest PJ. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 57:347-358.
- Pritchard RH, Males JR. 1985. Effect of crude protein and ruminal ammonia-N on digestibility and ruminal outflow in beef cattle fed wheat straw. *Journal of Animal Science* 60:822-831.
- RDA. 2012. Korean feeding standard for dairy cattle. 3rd Edition. National Institute of Animal Science. Rural Development Administration.
- SAS. 2002. Sas User's Guide. Statistics. Version 9.1. SAS Institute. Inc. Cary, NC.
- Steel RGD, Torrie JH. 1980. Principles and procedures of statistics: A biometrical approach (2nd Edition). McGraw-Hill Bok Co., New York. USA.
- Wallace RJ. 1988. Ecology of rumen micro-organisms: protein use. *In Aspects of digestive physiology in ruminants*. A. Dobson and M.J. Dobson. (Eds.) pp. 99-122. Cornell University Press, Ithaca.
- Wallace RJ, Newbold CJ, McKain N. 1990. Patterns of peptide metabolism by rumen microorganisms. *In The Rumen Ecosystem, the Microbial Metabolism and Its Regulation*. S. Hoshino, R. Onodera and H. Itabashi. (Eds.) pp. 43-50. Springer-Verlag, Tokyo.