

Research Article

호밀 조사료 가공방법이 한우의 반추위 내 발효특성과 온실가스 발생량에 미치는 영향

김지윤^{1,†}, 정승민^{2,†}, 주영호³, 백창현¹, 최부길¹, 애린다¹, 김삼철^{1,3*}

¹경상국립대학교 응용생명과학부(BK21Four), ²국립축산과학원 초지사료과, ³경상국립대학교 농업생명과학연구원

Effects of the Processing Methods of Forage Rye (*Secale cereale*) on Rumen Fermentation Characteristics and Greenhouse Gas Emissions *In Vitro* of Hanwoo

Ji Yoon Kim^{1,†}, Seung Min Jeong^{2,†}, Young Ho Joo³, Chang Hyun Baeg¹, Bu Gil Choi¹,
Arraynda Rachma Dyasti Wardani¹ and Sam Churl Kim^{1,3*}

¹Division of Applied Life Science (BK21Four), Gyeongsang National University, Jinju 52828, Republic of Korea

²Grassland and Forages Division, National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan 31000, South Korea

³Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Republic of Korea

ABSTRACT

This study was conducted to estimate the effects of the forage process on rumen fermentation characteristics and greenhouse gas emissions of rye. Rye was grown at the Taeyoung Livestock farm and harvested at the heading stage. The harvested rye (5 kg) was sub-sampled for fresh forage, hay, and silage in triplicates. The sub-sampled rye was freeze-dried or air-dried for fresh forage or rye hay, respectively. For rye silage, the sub-sampled rye forage was ensiled into a 10 L mini bucket silo and stored for 90 days. For 72 h rumen incubation, each forage (0.3 g) was placed into the incubation bottle with the rumen mixture (30 mL) in quadruplicates. After the incubation, total gas was measured and sub-sampled for CO₂ and CH₄ analyses, and the bottle content was centrifuged for *in vitro* digestibilities of dry matter (IVDMD) and neutral detergent fiber (IVNDFD), and rumen fermentation characteristics. Silage had higher crude protein, crude ash, and acid detergent fiber concentrations than fresh forage and hay but lower non-fiber carbohydrates and relative feed value ($p < 0.05$). And, silage had higher lactic acid bacteria than the other forages but lower pH ($p < 0.05$). After 72 h incubation in the rumen, fresh forage had higher IVDMD and butyrate content than the other forages ($p < 0.05$). However, silage had higher rumen pH and propionate content than the other forages but lower A:P ratio ($p < 0.05$). Regarding greenhouse gases, silage had lowest total gas (mL/g DMD and NDFD) and CH₄ (mL/g DMD and NDFD) emissions, while fresh forage had lowest CO₂ (mL/g DMD) emission ($p < 0.05$). Therefore, this study concluded that the ensiling process of rye can effectively mitigate greenhouse gas emissions of Hanwoo.

(Key words: Forage process, Greenhouse gas emission, Rumen fermentation, Rye)

I. 서론

최근 전세계적으로 나타나고 있는 이상 기상현상으로 인해 기후변화에 대한 관심이 점차 높아지고 있으며, 이러한 기후변화의 주된 원인은 온실가스 배출량 증가로 간주되고 있다(Aldous and Hirji, 2021). 이러한 온실가스 발생량을 분야별로 분석하였을 때, 산업(29%), 전력(29%), 농림축산 및 폐기물(20%), 운송(15%), 건물(7%)의 순이며, 축산업은 약 7%를 차지하는 것으로 보고되었다(Rivera et al., 2022). 지구 온난화를 초래하는 대표적

인 온실가스로는 이산화탄소(CO₂), 메탄(CH₄), 아산화질소(N₂O), 육불화황(SF₆), 수소불화탄소(HFCs), 과불화탄소(PFCs) 등이 있으며, 축산분야에서는 가축의 장내발효에서 CO₂와 CH₄이 발생한다. 이것은 가축이 섭취한 사료를 반추위 내 미생물이 발효시키는 과정에서 acetate, propionate, CO₂, H₂ 등의 다양한 대사산물이 발생하게 되며, 반추위 내 methanogen은 methyl기를 갖는 일탄소 화합물, CO₂, acetate, H₂ 등의 전구물질을 이용하여 CH₄을 합성하게 된다(Wang et al., 2023).

조사료는 농후사료에 비해 구조성 탄수화물 함량이 높아서 반

[†]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author: Sam Churl Kim, Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Republic of Korea, Tel: +82-55-772-1947, E-mail: kimsc@gnu.ac.kr

추위 내 분해속도가 느리며 소화율은 낮지만, 되새김을 유발하여 타액분비를 촉진하고 반추위 내 pH를 안정시키는 효과가 있다 (NIAS, 2015). 이러한 조사료는 반추위 내 발효 시 acetate 생성 비율을 증가시키며 이때 유리된 수소이온은 methanogen 의한 CH₄ 합성의 전구물질로 이용될 수 있다 (Navarro-Villa et al., 2013; Xue et al., 2019; Guo et al., 2022). 일반적으로 청초를 가축에 급여하기 위해 건초, 사일리지 등의 형태로 가공하였을 때, 영양소 함량과 사료적 가치가 달라진다. Navarro-Villa et al. (2013)은 페레니얼 라이그라스를 사일리지 제조하였을 때, 반추위 내 CH₄ 발생량이 감소하였다고 보고하였으며, Pecka-Kielb et al. (2021)은 옥수수, 호밀 등 다양한 조사료를 사일리지로 제조하여 CH₄ 발생량을 비교 분석하였을 때, 사일리지 간에도 차이가 있음을 보고하였다. 이러한 선행연구들에서 조사료의 종류와 가공 기술이 온실가스 발생량에 영향을 미칠 수 있음을 보여주고 있으나, 국내에서는 조사료 가공방법에 의한 온실가스 연구는 제한적으로 수행되었다. 호밀은 이탈리아인 라이그라스와 함께 국내에서 많이 재배되고 있는 동계 사료작물이며 벳짚에 비해 조단백질 함량이 높고 사료적 가치가 우수하다.

따라서 본 연구에서는 국내 대표적 동계 사료작물 중 하나인 호밀의 가공방법이 반추위 내 발효특성과 온실가스 발생량에 미치는 영향을 조사하고, 국내 온실가스 저감을 위한 조사료 가공기술 개발을 위한 기초자료를 제시하고자 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 호밀 생산

경남 진주시 소재 태영축산에서 재배된 호밀(곡우)을 출수기에 수확하였다. 수확된 호밀은 청초, 건초 및 사일리지 제조를 위해 각각 5 kg씩 3반복으로 채취하였다. 호밀 청초는 영양소 함량 변화를 최소화하기 위하여 동결건조기(FDB-5502, Operon Co. Ltd., Gimpo, Korea)로 건조하였으며, 호밀 건초는 태양광을 이용하여 5일간 자연건조 하였다. 사일리지는 수확된 호밀을 3-5 cm 길이로 세절하여 10 L mini bucket silo (5 kg)에 넣었고 (n=3), 90일간 자연 발효시킨 후 개봉하였다. 개봉된 사일로에서 영양소 함량과 반추위 내 발효특성 분석용 시료(1 kg)을 채취하여 55°C 송풍 건조기에서 48시간 동안 건조하였다.

2. 영양소 함량, 발효특성 및 미생물 성장

건조된 시료(청초, 건초 및 사일리지)는 cutting mill 분쇄기 (Shinmyung Electric Co., Ltd., Gimpo, Korea)를 이용하여 분쇄하고, 1 mm screen을 통과한 시료를 분석에 사용하였다. 건물 함

량분석은 105°C 송풍 건조기(OE-22GW, JEIO TECH, Korea)에서 24시간 동안 건조 후 무게를 측정하였다. 조단백질은 Kjeldahl 법(B-324, 412, 435 and 719Titrino, BUCHI, Germany), 조지방은 Soxhlet법(OB-25E, JeioTech, Korea), 조회분은 회화로 (Muffle furnace, Nabertherm, Liliental, Germany)를 이용하여 분석하였으며, AOAC법(1990)에 준하여 분석하였다. Neutral detergent fiber (NDF)와 acid detergent fiber (ADF) 함량은 Ankom²⁰⁰ fiber analyzer (Ankom Technology, Macedon, NY, USA)를 이용하여 Van Soest (1991)법에 준하여 분석하였다. Non-fiber carbohydrates (NFC) 함량은 다음과 같이 계산하였다. $NFC = 100 - (NDF (\%) + CP (\%) + EE (\%) + Ash (\%))$. 또한, relative feed value (RFV)는 Jeranyama and Garcia (2004)의 방법에 준하여 다음과 같이 계산하였다. $Digestible\ Dry\ Matter\ (DDM) = 88.9 - (0.779 \times ADF (\%))$. $Dry\ Matter\ Intake\ (DMI) = 120 / NDF (\%)$. $RFV = DDM \times DMI / 1.29$. 한편 각 시료의 발효특성과 미생물 성장을 분석하기 위하여 시료(20 g)와 멸균 증류수(180 mL)를 혼합하여 믹서기로 30초간 균질화시킨 후 4겹의 cheese cloth로 걸러서 추출액을 제조하여 분석에 이용하였다. pH는 pH meter (SevenEasy, Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland)를 이용하였으며, 암모니아태 질소 (Ammonia-N) 함량은 비색법에 준하여 분석하였다(Chaney and Marbach, 1962). Volatile fatty acid (VFA) 함량은 auto sampler (L-2200, Hitachi, Tokyo, Japan), UV detector (L-2400, Hitachi, Tokyo, Japan) 및 column (MetaCarb 87H, Varian, CA, USA)이 부착된 HPLC를 이용하여 분석하였다(Adesogan et al., 2004). 미생물 성장 분석을 위해, 추출액 1 mL과 멸균 희석액(0.84% NaCl) 9 mL을 혼합한 후 10진 희석법에 준하여 희석한 후 분석에 이용하였다. 유산균(Lactic acid bacteria, LAB)은 Lactobacilli MRS agar media (MRS, Difco, Detroit, MI, USA), 곰팡이 (Mold)와 효모(Yeast)는 potato dextrose agar (PDA, Difco, Detroit, MI, USA)에 희석액(100 µL)을 도말하여 30°C에서 48시간 배양한 후 균수(log₁₀ cfu/g)를 측정하였다.

3. 반추위 내 *in vitro* 소화율과 발효특성

본 실험은 경상국립대학교 동물생명윤리 위원회 승인을 받아 진행하였으며(GNU-191011-E0050), 반추위 내 *in vitro* 발효특성은 Adesogan et al. (2005)의 법에 준하여 수행하였다. 반추위액은 캐놀라가 장착된 한우 암소 2두에게 조사료와 농후사료를 8:2 비율로 5일간 급여한 후 아침급여 직전에 채취하고 4겹의 cheese cloth로 걸러주었다. 채취한 위액을 Van Soest medium buffer와 1:2 비율로 혼합하여 rumen buffer를 제조하고 CO₂를 충전하여 혐기적인 상태를 유지하였다. 건조 분쇄한 시험사료(0.3

g)와 rumen buffer (30 mL)을 125 mL serum bottle에 넣고 (n = 4), 39°C incubator에서 72시간동안 배양하였다. 배양종료 후에는 Filter paper (Np. 2)를 이용하여 내용물의 액상과 고형물을 분리하였다. 액상은 pH, VFA 및 ammonia-N 분석에 이용하였으며, 앞서 설명한 바와 같이 pH meter, HPLC 및 비색법에 준하여 각각 분석하였다. 고형물은 *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD)를 측정하였고, Ankom 200 섬유 분석기(Ankom Technology, Macedon, NY, USA)를 이용하여 NDF 함량을 분석 후 *in vitro* neutral detergent fiber digestibility (IVNDFD)를 측정하였다.

4. 반추위 내 *in vitro* gas 발생량

Total gas는 Digital manometer (06-664-21 Fisher Scientific Pittsburgh, PA, USA)를 이용하여 측정하였으며, Jin et al. (2021)의 방법에 준하여 psi 단위를 환산하였다. 가스는 진공된 유리병에 포집 하였으며, 포집된 가스는 TCD detector와 column (Supelco, Bellefonte, PA, USA)이 설치된 gas chromatography (Agilent Technologies HP 5890, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 분석하였다(Patra and Yu, 2014).

5. 통계처리

본 시험에서 얻어진 결과는 SAS program (ver. 9.4 program; SAS, 2013)을 이용하여 통계분석을 실시하였으며, 각 처리구간 유의성 검정은 Tukey's test ($p < 0.05$)로 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 영양소 함량, 발효특성 및 미생물 성상

호밀의 조사료 제조방법에 따른 영양소 함량, 발효특성 및 미생물 성상을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 건물 함량은 건초(72.5%)에서 가장 높았으며($p < 0.05$), 다음으로 청초(20.6%)와 사일리지(15.1%) 순으로 나타났다. 조단백질, 조회분, NDF 및 ADF 함량은 사일리지(13.0, 8.27, 64.3 및 40.5%)에서 가장 높은 반면, NFC 함량은 청초(21.7%)에서 가장 높았다($p < 0.05$). 한편 RFV는 청초(94.0)와 건초(88.5)에서 가장 높았다($p < 0.05$). pH는 사일리지(4.99)에서 가장 낮았고($p < 0.05$), ammonia-N, lactate 및 acetate는 청초와 건초에서는 나타나지 않았으나 사일리지에서 각각 0.23, 10.5 및 4.80%로 나타났다. LAB는 사일리지(6.11

Table 1. Effects of the processing methods on chemical compositions, fermentation characteristics, and microbes of forage rye

	Fresh forage	Hay	Silage	SEM
Chemical compositions				
Dry matter, %	20.6 ^b	72.5 ^a	15.1 ^c	1.275
Crude protein, % DM	8.80 ^c	10.2 ^b	13.0 ^a	0.315
Ether extract, % DM	2.21	1.82	2.25	0.330
Crude ash, % DM	6.33 ^b	6.35 ^b	8.27 ^a	0.223
NDF, % DM	60.9 ^b	63.6 ^a	64.3 ^a	0.421
ADF, % DM	35.1 ^c	36.4 ^b	40.5 ^a	0.406
NFC, % DM	21.7 ^a	18.0 ^b	12.1 ^c	0.753
RFV	94.0 ^a	88.5 ^a	82.9 ^b	0.990
Fermentation characteristics				
pH	6.42 ^a	6.30 ^a	4.99 ^b	0.077
Ammonia-N, % DM	ND	ND	0.23	0.001
Lactate, % DM	ND	ND	10.5	0.201
Acetate, % DM	ND	ND	4.80	0.056
Microbes				
Lactic acid bacteria, log10 cfu/g	4.35 ^b	4.49 ^a	6.11 ^a	0.426
Yeast, log10 cfu/g	4.30	ND	ND	0.189
Mold, log10 cfu/g	ND	ND	4.30	0.196

NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; NFC, non-fiber carbohydrates; ND, not detected; RFV, relative feed value; SEM, standard error of the mean; ^{a-c} Means in the same row with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$).

log10 cfu/g)에서 가장 높았고($p<0.05$), yeast는 청초(4.35 log10 cfu/g)에서, mold는 사일리지(4.30 log10 cfu/g)에서만 나타났다. 사일리지는 미생물에 의한 발효로 유기산 함량이 증가하여 사일로 내 pH가 낮아지고 조단백질 분해가 억제되는데, 일부 탄수화물과 수분이 발효과정에서 분해되거나 소실됨으로 인해 조단백질 함량은 상대적으로 높아질 수 있다(Stute et al., 2007). 또한 다즙질 조사료의 혐기적 발효로 제조되는 사일리지는 발효과정 중 미생물의 활동으로 수용성 당 등이 에너지원으로 이용됨으로 인해 섬유소(NDF, ADF)와 조회분 함량이 상대적으로 높아진다(Hoffman et al., 2001; Stute et al., 2007; Guo et al., 2022). 반면, 청초에서 NFC 함량이 높은 것은 건초 제조 시 햇빛 등에 의한 산화, 사일리지 제조 시 미생물에 의한 영양소 이용 등이 일어나지 않았기 때문인 것으로 사료된다. 이로 인해 청초의 RFV가 건초나 사일리지에 비해 더 높게 나타난 것으로 보인다(Stute et al., 2007). 청초와 건초에 비해 사일리지의 pH가 낮았는데, 이러한 결과는 사일리지 발효과정에서 LAB와 같은 미생물에 의한 당 분해로 lactate, acetate 등의 유기산이 다량 발생했기 때문이다(McDonald et al., 1991). 또한 조사료를 혐기적 상태로 밀봉하였을 때, 혐기성 미생물인 LAB의 성장은 촉진시키지만, 호기성 미생물인 yeast와 mold의 성장은 감소한다(McDonald et al., 1991). 따라서 본 연구에서 제조된 사일리지의 높은 유기산과 LAB, 낮은 pH, yeast 및 mold는 양질의 사일리지가 제조되었기 때문인 것으로 사료된다.

2. 반추위 내 *in vitro* 소화율과 발효특성

호밀의 조사료 제조방법에 따른 반추위 내 *in vitro* 소화율 및 발효특성을 분석한 결과는 Table 2와 같다. 반추위 내 IVDMD는 청초(64.3%)에서 가장 높았으나($p<0.05$), IVNDFD는 시험구간 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 반추위 내 pH와 propionate 함량은 사일리지(6.73 and 18.9% of *M*)에서 가장 높았으며, A:P ratio는 사일리지(3.12)에서 가장 낮았다($p<0.05$). Butyrate 함량은 청초(10.5% of *M*)에서 가장 높았고($p<0.05$), ammonia-N, total VFA 및 acetate 함량은 시험구간 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 본 연구에서 반추위 내 소화율은 청초에서 가장 높았는데, 이는 청초가 다른 시험구에 비해 높은 NFC 함량으로 반추위 내에서 분해가 촉진된 것으로 사료된다. pH는 모든 시험구에서 정상적인 범위를 나타냈으며(6.48~6.73), propionate 함량 사일리지에서 가장 높았는데, 이는 구조성 탄수화물의 결정화로 인해 소화율이 낮기 때문으로 사료되며, 사일리지에서 높은 propionate 함량으로 인하여 A:P 비율이 감소하였다(Xue et al., 2019). 청초는 반추위 내에서 미생물에 의한 섬유소 분해가 활발히 일어나는데, 이러한 과정에서 butyrate 생산을 촉진하는 특정 미생물들의 활력이 증가한다(Guo et al., 2022).

3. 반추위 내 *in vitro* 가스 발생량

호밀의 조사료 제조방법에 따른 반추위 내 가스 발생량을 분석한 결과는 Figure 1, 2, 3과 같다. DMD 기준으로 total gas와 CH₄ 발생량은 사일리지(154 and 5.9 mL/g DMD)에서 가장 낮았으나, CO₂ 발생량은 청초(15.8 mL/g DMD)에서 가장 낮았다

Table 2. Effects of the processing methods on nutrient digestibility and fermentation characteristics of forage rye incubated with rumen buffer for 72 h

	Fresh forage	Hay	Silage	SEM
<i>In vitro</i> digestibility, % DM				
DMD	64.3 ^a	59.3 ^b	57.7 ^b	1.341
NDFD	57.0	54.4	55.7	1.565
Fermentation characteristics				
pH	6.48 ^b	6.53 ^b	6.73 ^a	0.035
Ammonia-N, mg/dL	15.4	16.1	16.5	0.959
Total VFA, mM/L	65.9	65.3	60.1	6.841
Acetate, % of <i>M</i>	60.1	61.2	59.1	1.169
Propionate, % of <i>M</i>	18.6 ^b	18.4 ^b	18.9 ^a	0.158
Butyrate, % of <i>M</i>	10.5 ^a	10.0 ^b	9.80 ^b	0.217
A:P ratio	3.24 ^{ab}	3.33 ^a	3.12 ^b	0.063

DMD, *in vitro* dry matter digestibility; NDFD, *in vitro* neutral detergent fiber digestibility; A:P ratio, acetate to propionate ratio; SEM, standard error of the mean; ^{a-c} Means in the same row with different superscripts differ significantly ($p<0.05$).

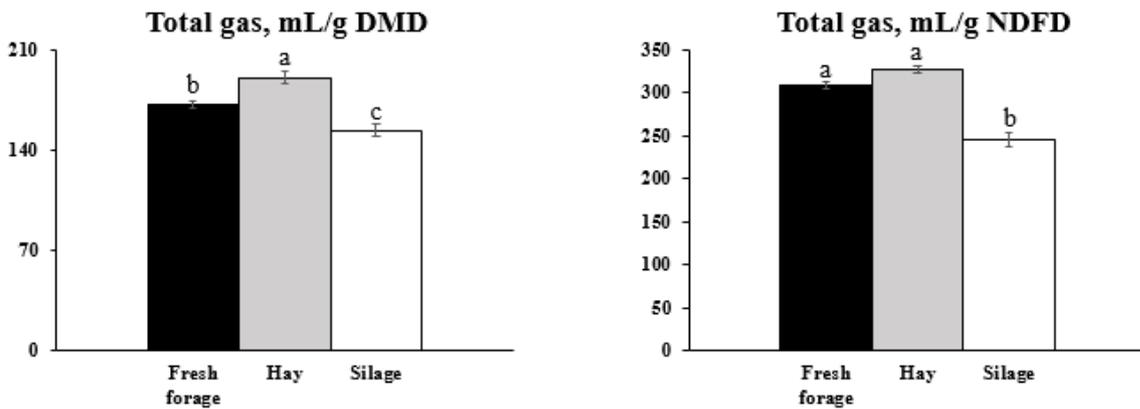


Fig. 1. Effects of the processing methods on total gas emissions of forage rye incubated with rumen buffer for 72 h. DMD, dry matter digestibility; NDFD, neutral detergent fiber digestibility; ^{a-c} Means in the same row with different superscripts differ significantly ($\alpha < 0.05$).

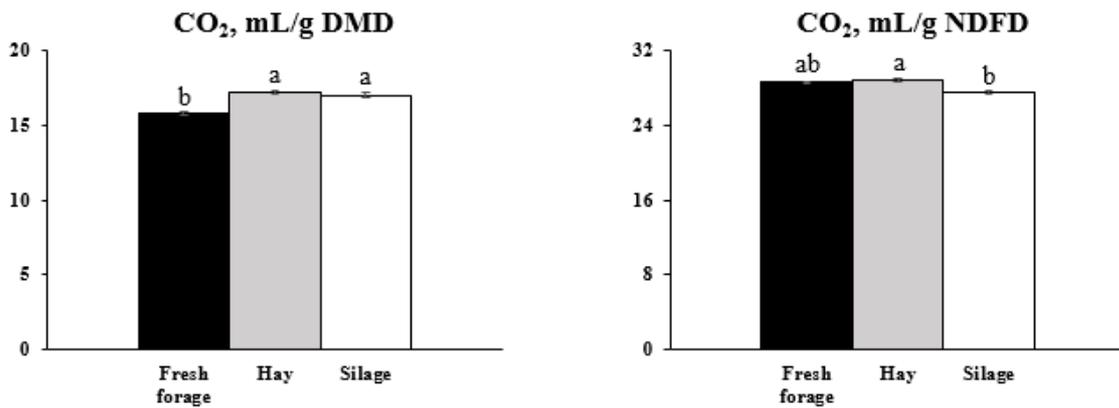


Fig. 2. Effects of the processing methods on CO₂ emissions of forage rye incubated with rumen buffer for 72 h. DMD, dry matter digestibility; NDFD, neutral detergent fiber digestibility; ^{a,b} Means in the same row with different superscripts differ significantly ($\alpha < 0.05$).

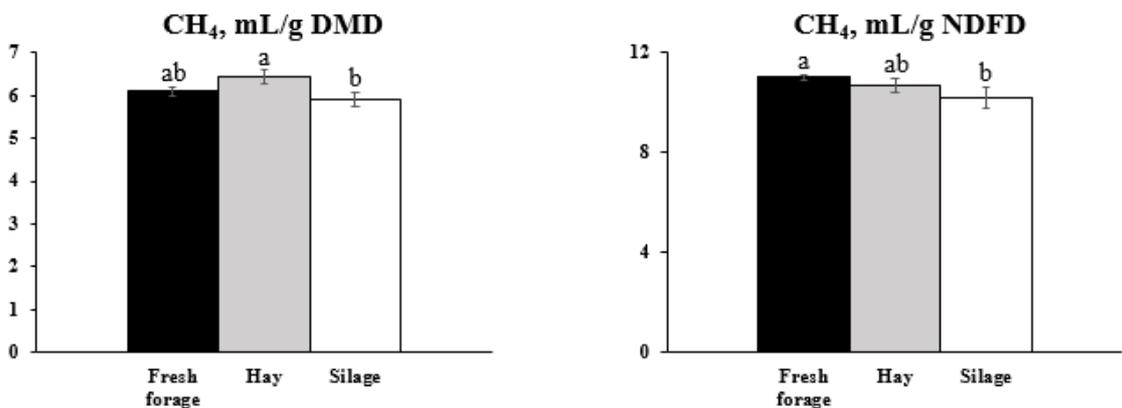


Fig. 3. Effects of the processing methods on CH₄ emissions of forage rye incubated with rumen buffer for 72 h. DMD, dry matter digestibility; NDFD, neutral detergent fiber digestibility; ^{a,b} Means in the same row with different superscripts differ significantly ($\alpha < 0.05$).

($p < 0.05$). NDFD 기준으로는 total gas, CO₂ 및 CH₄ 발생량은 사일리지(246, 27.6, and 10.2 mL/g NDFD)에서 가장 낮았다 ($p < 0.05$). 반추위 내 가스 발생량은 사료의 영양소 함량과 소화율이 높을수록 증가하며 조사료의 섬유질 함량이 높을수록 발효과정에서 온실가스 발생량이 감소한다고 보고하였다(Dhakal et al., 2024). 본 연구에서 호밀을 사일리지 제조하였을 때, 섬유소(NDF, ADF) 함량은 증가하고 건물소화율(IVDMD)은 감소하였는데, 이로 인하여 반추위 내 CO₂와 CH₄ 발생량이 감소한 것으로 사료된다. 일반적으로 반추위 내 acetate는 methanogen에 의해 CH₄ 합성의 전구물질로 이용될 수 있으나, propionate는 수소를 이용함으로써 반추위 내 CH₄ 합성량을 감소시킬 수 있다(Meale et al., 2012). 본 연구에서 사일리지 시험구에서 propionate 함량이 가장 높았고 A:P ratio는 낮았는데, 이로 인해 사일리지 시험구에서 반추위 내 CH₄ 발생량이 감소한 것으로 사료된다. Brask et al. (2013)도 알팔파를 건초와 사일리지로 제조하였을 때, 사일리지 시험구에서 메탄 발생량이 감소하는 결과를 확인하였으며, 이는 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다.

IV. 요약

본 연구에서는 국내에서 이용되는 호밀의 조사료 가공방법에 따른 영양소 함량, 반추위 내 소화율, 발효특성 및 온실가스 발생량을 평가하기 위해 수행되었다. 출수기에 수확한 호밀은 청초, 건초 및 사일리지로 제조하여 시험에 이용하였다. 조단백질, 조회분 및 ADF 함량은 사일리지에서 가장 높았고, 청초에서 가장 낮았다. NFC 함량과 RFV는 청초에서 가장 높았고, 사일리지에서는 가장 낮았다. 한편 호밀 조사료를 72시간 동안 한우의 반추위 내에서 *in vitro* 발효하였을 때, IVDMD는 청초가 건초와 사일리지에 비해 높았으나, IVNDFD 소화율은 시험구간 차이가 없었다. 반추위 내 propionate 함량이 사일리지에서 가장 높았으며, 이로 인해 A:P ratio는 가장 낮았다. IVDMD 기준 total gas와 CH₄ 발생량은 사일리지가 가장 낮았으며, CO₂ 발생량은 생초가 낮았다. 한편 IVNDFD 기준 total gas, CO₂ 및 CH₄ 발생량은 사일리지가 가장 낮았다. 이상의 결과에서, 호밀은 사일리지로 제조하는 것이 온실가스 저감에서 유리할 것으로 사료된다.

V. 사사

본 연구는 농림식품기술기획평가원의 연구사업(과제번호: RS-2021-IP321083)의 지원에 의해 이루어졌습니다.

VI. REFERENCES

- Adesogan, A.T., Krueger, N., Salawu, M.B., Dean, D.B. and Staples, C.R. 2004. The influence of treatment with dual purpose bacterial inoculants or soluble carbohydrates on the fermentation and aerobic stability of bermudagrass. *Journal of Dairy Science*. 87:3407-3416. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73476-1
- Adesogan, A.T., Krueger, N.K. and Kim, S.C. 2005. A novel, wireless, automated system for measuring fermentation gas production kinetics of feeds and its application to feed characterization. *Animal Feed Science and Technology*. 123:211-223. doi:10.1016/j.anifeeds.2005.04.058
- Aldhous, P. and Hirji, Z. 2021. The climate crisis, by the number: Your guide to humanity's greatest challenge.
- AOAC. 2005. Official method of analysis (18th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington DC. USA.
- Brask, M., Lund, P., Hellwing, A.L.F., Poulsen, M. and Weisbjerg, M.R. 2013. Enteric methane production, digestibility and rumen fermentation in dairy cows fed different forages with and without rapeseed fat supplementation. *Animal Feed Science and Technology*. 184:67-79. doi.org/10.1016/j.anifeeds.2013.06.006.
- Chaney, A.L. and Marbach, E.P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clinical Chemistry*. 8:130-132. doi:10.1093/clinchem/8.2.130
- Dhakal, R., Neves, A.L.A., Sapkota, R., Khanal, P., Ellegaard-Jensen, L., Winding, A. and Hansen, H.H. 2024. Temporal dynamics of volatile fatty acids profile, methane production, and prokaryotic community in an *in vitro* rumen fermentation system fed with maize silage. *Frontiers in Microbiology*. 15:1271599. doi:10.3389/fmicb.2024.1271599
- Guo, C., Wu, Y., Li, S., Cao, Z., Wang, Y., Mao, J., Shi, H., Shi, R., Sun, X., Zheng, Y., Kong, F., Hao, Y. and Xu, X. 2022. Effects of different forage types on rumen fermentation, microflora, and production performance in peak-lactation dairy cows. *Fermentation*. 8(10):507. doi:10.3390/fermentation8100507
- Hoffman, P.C., Shaver, R.D., Combs, D.K., Undersander, D.J., Bauman, L.M. and Seeger, T.K. 2001. Understanding NDF digestibility of forages. *Focus on Forage*. 3(10):1-3.
- Jeranyama, P. and Garcia, A.D. 2004. Understanding relative feed value (RFV) and relative forage quality (RFQ). *Open PRAIRIE: Open Public Research Access Institutional Repository and Information Exchange*. 8-1-2004.
- Jin, Q., You, W., Tan, X., Liu, G., Zhang, X., Liu, X., Wan, F. and Wei, C. 2021. Caffeic acid modulates methane production and rumen fermentation in an opposite way high-forage or high-concentrate substrate *in vitro*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.

Forage Process on Rumen Fermentation of Rye

- 101(7):3013-3020. doi:10.1002/jsfa.10935
- McDonald, P., Henderson, A.R. and Heron, S.J.E. 1991. The biochemistry of silage (2nd ed.). Marlow, Bucks, UK: Chalcombe Publications. pp. 248-291.
- Navarro-Villa, A., O'Brien, M., López, S., Boland, T.M. and O'Kiely, P. 2013. *In vitro* rumen methane output of grasses and grass silages differing in fermentation characteristics using the gas-production technique (GPT). Grass and Forage Science. 68(2):228-244. doi:10.1111/j.1365-2494.2012.00894.x
- National Institute of Animal Science (NIAS). 2015. Livestock Yearbook, 3rd place 'Forage'. pp. 1-27.
- Patra, A.K. and Yu, Z. 2014. Combinations of nitrate, saponin, and sulfate additively reduce methane production by rumen cultures *in vitro* while not adversely affecting feed digestion, fermentation or microbial communities. Bioresource Technology. 155:129-135. doi:10.1016/j.biortech.2013.12.099
- Pecka-Kielb, D., Miśta D., Króliczewska, B., Zachwieja, A., Słupczyńska, M., Król, B. and Sowiński, J. 2021. Changes in the *in vitro* ruminal fermentation of diets for dairy cows based on selected sorghum cultivars compared to maize, rye and grass silage. Agriculture. 11(6):492. doi:10.3390/agriculture11060492
- Rivera A., Movalia S., Rutkowski E., Rangel, Y., Pitt, H. and Larsan, K. 2023. Global greenhouse gas emissions: 1990-2021 and preliminary 2022 estimates.
- SAS User's Guide. Version 9.4 Edition. 2013. SAS Inst. Inc. Cary. NC. USA.
- Stute, J., Shelley, K., Mueller, D. and Wood, T. 2007. Planting winter rye after corn silage: Managing for forage.
- 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. doi:10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2
- Wang, K., Xiong, B. and Zhao, X. 2023. Could propionate formation be used to reduce enteric methane emission in ruminants? Science of The Total Environment. 855:158867. doi:10.1016/j.scitotenv.2022.158867
- Xue, Z., Liu, N., Wang, Y., Yang, H., Wei, Y., Moriel, P., Palmer, E. and Zhang, Y. 2019. Combining orchardgrass and alfalfa: Effects of forage ratios on *in vitro* rumen degradation and fermentation characteristics of silage compared with hay. Animals. 10(1):59. doi:10.3390/ani10010059

(Received : June 12, 2024 | Revised : June 23, 2024 | Accepted : June 24, 2024)