

畜牧业中的甲烷排放及其减排调控技术*

曾波^{1,2} 钟荣珍^{1,2} 谭支良^{1**}

(1. 中国科学院亚热带农业生态研究所 长沙 410125; 2. 中国科学院研究生院 北京 100049)

摘要 畜禽养殖规模的扩大使家畜胃肠道和粪尿的甲烷排放增加,加剧了温室效应。本文通过分析中国畜牧业的现状、发展趋势及其对甲烷排放的影响以及甲烷的生成过程、产甲烷菌的结构特征和多样性,提出减少胃肠道和粪尿甲烷排放的3种有效途径:一是改善日粮品质和结构以及培育高生产性能品种,从而提高畜群生产力,减少单位畜产品甲烷产量;二是通过调控瘤胃微生物区系,抑制产甲烷菌的生长,阻断甲烷生成途径,降低个体甲烷产量;三是提出处理家畜粪尿的能源环保型和生态环保型管理模式,以实现资源的充分利用,减少甲烷排放。

关键词 畜牧业 甲烷 瘤胃 产甲烷菌 减排

中图分类号: S811.5 文献标识码: A 文章编号: 1671-3990(2009)04-0811-06

Methane emission and abatement strategy in animal husbandry

ZENG Bo^{1,2}, ZHONG Rong-Zhen^{1,2}, TAN Zhi-Liang¹

(1. Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China;
2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Animal husbandry significantly contributes to anthropogenic emissions of methane. In this paper, we analyzed current situation and development trend of livestock industry in China and its effect on methane emission, methane formation and structural characteristics, as well as methanogen diversity. Effective mitigation can be achieved via. 1) diet and breed improvement which enhances herd productivity and reduces per livestock methane emission; 2) regulation of per livestock rumen microbial flora and reduction of methanogen and methane emission; 3) use of models of manure disposal that abate methane emission into the atmosphere.

Key words Animal husbandry, Methane, Rumen, Methanogen, Emission mitigation

(Received Aug. 8, 2008; accepted Nov. 13, 2008)

随着全球工业化的不断推进,人类活动产生的温室气体逐年增加,因温室气体累积所致的全球气候变暖已成为科学界的共识。工业化以前大气中的甲烷(CH₄)体积分数约为 715×10^{-9} ,到2005年时已达到 $1\ 774 \times 10^{-9}$,远远超出65万年来甲烷在大气含量中的自然变化幅度($320 \sim 790 \times 10^{-9}$)^[1]。尽管人类活动产生的甲烷仅占人类活动产生的所有温室气体总量的15%左右^[2],但每分子CH₄吸收的红外能量是CO₂的21倍,CH₄对温室效应的贡献也达到22.9%,仅次于CO₂^[3]。因此,如何减少甲烷排放已成为生态环境研究领域最引人注目的前沿性科学问题之一。本文综述了中国畜牧业发展和甲烷排放的关系以及

一些减排调控措施,以期减小畜牧业生产对环境的影响提供理论依据。

1 我国畜牧业发展趋势与甲烷排放关系分析

畜牧业来源的甲烷来自于胃肠道发酵和粪尿有机物厌氧发酵,其排放量约占人类活动释放甲烷总量的1/3。不同类型家畜甲烷排放所占比重各异,其中黄牛占74%,水牛占6%,山羊和绵羊占12%,其他反刍动物约占3%,非反刍动物约占5%^[4]。

根据中国统计年鉴(2006)^[5]数据分析,自2001年起我国牛羊饲养数量和畜产品产量增长迅速,牛、山羊和绵羊存栏数年均增长率分别约为2.5%、

* 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-YW-N-022)资助

** 通讯作者:谭支良(1967~),男,研究员,博士生导师,主要研究方向为反刍动物营养学。E-mail: zltan@isa.ac.cn

曾波(1982~),男,硕士研究生,主要从事反刍动物生态营养研究。E-mail: zengbo65321@126.com

收稿日期:2008-08-08 接受日期:2008-11-13

4.7%和 5.2%，至 2005 年分别达到 14 157.5 万头、19 876.1 万只和 17 389.9 万只；而牛奶、牛肉和羊肉产量的年均增长率分别达到 26.9%、5.7%和 9.5%，2005 年年产量分别达 711.5 万 t、435.5 万 t 和 2 753.4 万 t。虽然家畜生产性能提高幅度大于饲养规模的扩大，但随着经济的快速发展和日益增长的消费需要，在未来相当长时期内牛羊饲养量将持续增长，由此将导致甲烷排放量逐年增加。EPA(2006)统计数据表明^[6]，1996 年我国畜牧业胃肠道和粪尿发酵排放的甲烷总量为 202.00 Mt CO₂-eq，2005 年为 280.79 Mt CO₂-eq，预计到 2020 年将增加到 381.06 Mt CO₂-eq。加强对反刍家畜生产过程的甲烷减排技术研究具有极为重要的现实意义。

2 甲烷生成与产甲烷菌的多样性

反刍动物胃肠道产生甲烷是维持瘤胃微生态环境正常状态的一个不可避免的过程。饲料中的有机物在胃肠道被微生物发酵生成甲烷，通过嗝气和放屁排入大气。

2.1 胃肠道和粪尿的甲烷生成

反刍动物瘤胃是畜牧业产生甲烷的主要部位，在瘤胃内，产甲烷菌能有效地将细菌和真菌分解饲料有机物产生的 H₂ 和甲酸、甲醇、甲胺及乙酸等含有甲基的初级发酵产物转化为甲烷，并以此获得生长所需的能量。H₂ 还原 CO₂ 是瘤胃产生甲烷的主要途径，而甲酸是仅次于 H₂ 和 CO₂ 的甲烷生成底物，Hungate 等^[7]认为瘤胃甲烷总产量的 18%来自于甲酸。此外，哺乳动物的结肠和盲肠也具有产生甲烷的能力。在人和小鼠的结肠内，以史氏甲烷短杆菌 (*Methanobrevibacter smithii*) 为主的产甲烷菌约占微生物总量的 10%，并能利用细菌发酵多糖后产生的 H₂ 还原 CO₂ 为甲烷^[8]。

家畜粪尿中的有机物含量非常高，其中猪粪、牛粪、羊粪和鸡粪的有机碳含量分别达 414 g·kg⁻¹、368 g·kg⁻¹、336 g·kg⁻¹ 和 301 g·kg⁻¹^[9]。在厌氧条件下，粪尿中的有机物首先被细菌分解为有机酸、[H]和 CO₂，然后被细菌利用生成甲烷，该过程受环境温度、粪尿有机物含量、pH 和碳氮比的影响较大。大约每千克粪便挥发性固体将产生 0.29 m³ 甲烷^[10]。不同类型家畜每年胃肠道和粪尿排泄物甲烷产量见表 1^[11]。

虽然生成甲烷的途径因不同底物而有差异，但最终都是在甲基转移酶的作用下将甲基转移到辅酶 M(HS~CoM)，生成甲基辅酶 M，后者在甲基辅酶 M 还原酶催化下接受电子生成甲烷^[12]。Wackett 等^[13]整理了 H₂ 还原 CO₂ 生成甲烷的完整步骤。甲醇和甲

表 1 不同类型家畜每年胃肠道和粪尿排泄物的甲烷产量

Tab. 1 Methane emission from intestinal tract and manure of different animal species kg·head⁻¹·a⁻¹

家畜种类 Animal species	肠道甲烷产量 Methane emission from intestinal tract	粪尿排泄物甲烷产量 Methane emission from manure
泌乳奶牛 Lactating dairy cow	63~102	21
肉牛 Beef	87~102	15
猪 Pig	1.5	3.3
禽 Poultry	0	0.26

胺生成甲烷时发生甲基歧化，一部分甲基被氧化为 CO₂ 并提供电子，另一部分甲基被还原为甲烷；而当以乙酸为底物时，其甲基还原成甲烷，羧基氧化为 CO₂ 并提供电子。

2.2 产甲烷菌的多样性和结构特征

目前已经在瘤胃内鉴定出 4 个属的产甲烷菌，即瘤胃甲烷短杆菌属 (*Methanobrevibacter*)、甲烷微菌属 (*Methanomicrobium*)、甲烷杆菌属 (*Methanobacterium*) 和甲烷八叠球菌属 (*Methanosarcina*)。这些产甲烷菌有的游离于瘤胃液中，有的附着于原虫表面或原虫胞内的氢化酶体上，还有的可能结合在其他微生物和饲料颗粒以及瘤胃壁上。其中瘤胃液和瘤胃壁上的优势菌为甲烷微菌科 (*Methanomicrobiaceae*)，瘤胃固体颗粒上的优势菌为甲烷杆菌科 (*Methanobacteriaceae*)^[14]。

产甲烷菌的细胞壁含有胞壁酸和二胺基庚二酸，以及含乙酰葡萄糖胺的肽聚糖，而膜脂则由丙三醇以醚键与长链类异戊二烯醇结合而成^[15]。产甲烷菌胞内的 F420、F430 和 F842 等辅酶因子共同组成产甲烷菌特有的电子传递系统，发挥细胞色素和醌的电子传递功能。产甲烷菌基因组约为 1.5×10⁶~6×10⁶ bp，大多数产甲烷菌基因组由一个环状染色体组成，但也有一些产甲烷菌含有染色体外元件 (Extrachromosomal element, ECE)。

3 家畜胃肠道甲烷释放的减排调控

反刍家畜胃肠道产生甲烷是必须的过程，不能被完全消除，但可以通过对生产过程关键环节的调控来减少甲烷排放。

3.1 提高家畜生产力，减少甲烷总排放量

IPCC(1996)^[16] 调查报告显示，提高饲草饲料品质和均衡供应营养素每年可减少甲烷排放量 10~35 Mt，提高饲料消化率则可以每年减少甲烷排放量 1~3 Mt，改良品种也将每年减少甲烷排放量 1~6 Mt。总之，提高家畜生产力减少的甲烷排放量可占到动物胃肠道甲烷排放总量的 10%~30%。

3.1.1 提高饲草料品质,优化日粮结构

改善低质饲料的品质可提高消化率和瘤胃内食糜颗粒的流通速率,减少瘤胃甲烷生成和粪便中残留的有机物,进而减少单位饲料消耗的甲烷产量。牛采食低质粗饲料后产生的甲烷约是采食高比例谷物日粮时的4倍左右^[17]。Getachew等^[18]在体外发酵研究中发现,饲料中慢速降解组分(如结构致密型纤维)能产生更多的甲烷,可能是由于其在瘤胃滞留时间长所致。而干草粉碎和制粒^[19]、稻草的氨处理以及玉米等饲草的青贮和微贮都能有效提高饲料利用率,减少甲烷产生。

日粮精料比例的增加可促进微生物群落结构的适应性变化,并使瘤胃细菌发酵生成丙酸的苹果酸—琥珀酸途径向乳酸—丙烯酸途径转变,在提高对 H_2 的竞争力和丙酸产量的同时,大大减少了单位产品(肉/奶)对应的甲烷产量和甲烷能比例。饲喂高精料日粮的羊和牛的每克瘤胃液中分别含有产甲烷菌 $10^7\sim 10^8$ 个和 $10^8\sim 10^9$ 个,而放牧的羊和奶牛的每克瘤胃液中含有甲烷菌 $10^9\sim 10^{10}$ 个。此外,对不同来源的碳水化合物发酵产生甲烷的研究发现,植物细胞壁发酵产生的甲烷比可溶性糖和淀粉多,淀粉最少^[19],而谷物饲料中小麦发酵产生的甲烷比玉米多^[20]。

3.1.2 培育高生产性能品种与改善饲养管理,提高畜群群体生产力

遗传因素对反刍家畜生产性能的发挥具有关键作用。通过不断选育品种,提高生产力,可以适度减少饲养总量,减少动物本身维持需要的消耗及其在维持消耗下所产生的甲烷,同时单位畜产品的甲烷排放量也随之减少。

给放牧家畜补饲精料或改为舍饲也能有效减少单位产品的甲烷产量。Lovett等^[21]研究发现在放牧条件下补饲精料后,奶牛产奶量明显提高,单位奶产量的甲烷产量则显著降低,育肥牛单位增重的甲烷产量也相对降低^[20]。

在相同饲料条件下,与限饲相比,自由采食的反刍家畜采食量大,每天甲烷产量相对较高,但生产效率的提高使单位产品的甲烷排放量降低,同时有利于减小饲养规模,减少家畜维持状态下产生的大量甲烷。此外,优化畜群结构,淘汰低产畜、病畜,优化奶牛合理有效的利用年限,均是提高反刍家畜群体生产力,减少胃肠道总甲烷排放量的主要技术对策。

3.2 调控瘤胃微生物区系,抑制胃肠道甲烷的产生

3.2.1 抑制产甲烷菌的生长,减少产甲烷菌数量

Gijzen等^[22]发现与原虫共生的产甲烷菌生成的

甲烷量占甲烷生成总量的9%~25%,表明原虫对产甲烷菌群落结构的稳定具有重要的影响。Morgavi等^[23]研究发现,绵羊瘤胃内短期的去原虫处理降低了产甲烷菌多样性,减少了甲烷产量,但长期去原虫处理引起产甲烷菌优势菌群演替,甲烷产量与未去原虫绵羊相当。故去原虫一定程度上可减少甲烷产量,但却使产甲烷菌群发生适应性改变。莫能菌素是常用的添加剂成分,可通过阻断细菌和原虫的离子跨膜运动,影响胞内离子平衡^[24],选择性地抑制产生 H_2 的细菌和原虫,但长期使用莫能菌素也会引起瘤胃菌群产生适应^[25]。莫能菌素和二氯乙酰胺(DCA)具有补偿效应,联合使用将使甲酸和 H_2 的累积更少^[26]。此外,皂苷能与原虫细胞膜上的胆固醇结合形成不可逆复合物,引起膜破裂,细胞溶解死亡,因而也能减少产甲烷菌数量^[27]。

降胆固醇药物能抑制HMG-CoA还原酶,阻断甲羟戊酸的合成,进而抑制产甲烷膜脂类异戊二烯单元的合成。Wolin等^[28]在体外纯培养瘤胃液中添加 $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的降胆固醇药物门伐他汀和洛伐他汀有效抑制了产甲烷菌生长,但对瘤胃其他细菌无影响;但Busquet等^[29]将 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的洛伐他汀添加到混合培养的瘤胃微生物中发现甲烷产量并未受影响,可能是微生物间的相互作用消除了药物的效用。

一些植物提取物富含调控菌群的活性成分,可直接抑制产甲烷菌和(或)产 H_2 的微生物数量。适当添加植物油^[29-34]、缩合单宁^[35]等能减少甲烷的产生。大蒜油中的有机硫化物能抑制产甲烷菌的HMG-CoA还原酶活性,阻断产甲烷菌脂质的合成^[29]。芥子油中的芥子甙转化成异硫氰酸丙烯酯(AIT)后也将抑制产甲烷菌活性^[30]。但这些成分若在饲料中添加过多不仅增大成本,还可能降低采食量和饲料消化率,影响钙磷代谢。

维持瘤胃低pH环境也能抑制瘤胃内产甲烷菌和部分细菌的生长,尤其当pH降到6.0以下时对产甲烷菌的抑制作用明显,甲烷产量显著下降, H_2 累积量增加^[36]。此外,利用细菌素抑制产生 H_2 的细菌和应用产甲烷菌疫苗抑制产甲烷菌也都将减少甲烷产生。瘤胃内的牛链球菌不仅能产生大量乳酸,降低瘤胃pH,还能产生细菌素。

3.2.2 阻断产甲烷菌内甲烷的生成途径

甲基转移是所有底物生成甲烷的共有步骤,其关键酶和辅助因子是甲基辅酶M还原酶和甲烷喋呤,后者由 β -RFA-P合酶催化合成^[37]。因此,抑制这些关键酶和因子的合成将减少甲烷的生成。例如,卤甲烷与维生素 B_{12} 反应后抑制甲基转移反应^[38],

而卤代脂肪酸及其衍生物在体外发酵中也能有效抑制甲烷产生, 尤其是 CBr_3COOH 、 $\text{CHCl}_2\text{CONH}_2$ 和 $\text{CCl}_3\text{CONH}_2$ 。在精料中添加 $80\sim 100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 N,N -二甲基-2,2,2-三溴乙酸后同样也能减少甲烷产量, 并少量提高生产性能, 对动物健康无不良影响^[39]。

3.2.3 减少 H_2 的生成, 增加 H_2 的利用, 降低甲烷生成量

H_2 由初级发酵微生物产生, 主要用于还原 CO_2 为甲烷, 也包括其他一些利用途径。Czerkawski 的研究表明, 用来还原 CO_2 为甲烷的 H_2 占瘤胃微生物产生量的 48%, 用于生成 VFA 的占 33%, 用于微生物生长的占 12%, 仅有 1%~2% 用于氢化不饱和脂肪酸^[40]。由延胡索酸和苹果酸或乳酸分别经琥珀酸脱羧或丙烯酸途径生成丙酸是消耗 H_2 和甲酸的最重要的其他途径, 虽然产琥珀酸菌对氢的亲合力不及产甲烷菌, 但它对甲酸的亲合力却高于产甲烷菌^[41]。此外, 产乙酸菌和硫酸盐还原菌也是重要的 H_2 利用菌, 后者利用 H_2 还原硫酸盐^[42], Fonty 等^[43] 研究发现, 在无产甲烷菌定植的羔羊瘤胃内, 产乙酸菌能替代产甲烷菌而作为利用氢的主要微生物, 但若接种于瘤胃就必须挑选具有更强竞争力的产乙酸菌, 并通过建立简单的瘤胃微生物区系模型以研究各自的演替规律。

硝酸盐和亚硝酸盐不仅作为电子受体与产甲烷过程竞争还原当量, 亚硝酸盐还可能抑制产甲烷菌的电子载体系统, 最终抑制甲烷的产生^[44]。Iwamoto 等^[45] 报道每还原 1 mol 硝酸盐为氨, 需消耗 4 mol 还原当量[H], 相当于减少 1 mol 甲烷。但有机的亚硝酸盐被还原成氨的速度非常慢。Sar 等^[44] 在体外发酵研究中发现接种 *Escherichia coli* W3110 和 *E. coli* nir-Ptac 后, 这两株大肠杆菌编码的亚硝酸盐还原酶加快了亚硝酸还原, 硝酸盐和亚硝酸盐含量显著下降, 同时更显著地抑制了甲烷的生成。

酿酒酵母可能具有增强产乙酸菌对 H_2 的利用能力, 减少以干草加精料(60:40)日粮或苜蓿干草为底物时体外发酵产生的甲烷, 而 H_2 未积累^[46]。Yea-Sacc 1026 也能减少甲烷产量^[47], 但 Procreatin-7 yeast 和 Levucell SC yeast 对甲烷释放却无显著影响^[34]。

目前在海底泥火山口附近发现存在厌氧的甲烷营养菌^[48], 能否将这些微生物引入瘤胃以消除产生的甲烷, 也值得通过建立简单的瘤胃微生物区系模型探索其应用前景。

根据瘤胃发酵特性和存在的 H_2 利用途径, 绘制出瘤胃内甲烷生成和 H_2 利用示意图(图 1)。

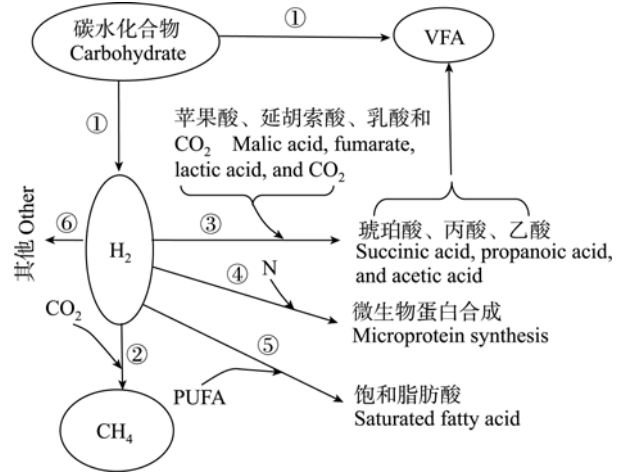


图 1 瘤胃内甲烷生成和 H_2 利用示意图

Fig. 1 The chart of methanogenesis and H_2 utilization in rumen. 瘤胃球菌和溶纤维丁酸弧菌等革兰氏阳性菌、普雷沃氏菌和反刍兽新月形单胞菌等革兰氏阴性菌以及真菌等瘤胃微生物水解碳水化合物发酵产生 VFA 和 H_2 ; *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Prevotella*, *Selenomonas ruminantium* and fungi hydrolyze carbohydrate to VFA and H_2 ; 甲烷细菌属、甲烷微菌属、甲烷短杆菌属和甲烷八叠球菌属等产甲烷菌生成甲烷, 利用 H_2 的比例为 48% *Methanobacterium*, *Methanomicrobium*, *Methanobrevibacter* and *Methanosarcina* remove 48% H_2 for synthesis of methane; 产琥珀酸弧菌、埃氏巨球形菌、真细菌等产酸菌, 利用 H_2 生成 VFA, 利用 H_2 的比例为 33% *Vibrio succinogens*, *Megasphaera elsdenii*, *Eubacterium*, etc. utilize 33% H_2 for VFA production; 微生物生长和蛋白质的合成, 利用 H_2 的比例为 12% Microbial growth and microbial protein synthesis, utilizing 12% H_2 ; 溶纤维丁酸弧菌和部分白色瘤胃球菌氢化多不饱和脂肪酸(PUFA), 利用 H_2 的比例为 1%~2% *Butyrivibrio fibrisovens* and some *Ruminococcus albus* biohydrogenate fatty acid with 1%~2% H_2 ; 所有其他利用 H_2 的途径, 包括产乙酸菌对 H_2 的利用 All of the other hydrogen sinks, including acetogenic bacteria remove H_2 to acetic acid.

4 改进家畜粪尿排泄物管理, 实现资源利用良性循环

粪尿有机物厌氧分解也产生大量温室气体, 合理的粪尿排泄物管理措施将有效减小污染, 并实现资源利用的良性循环。2005 年我国粪尿甲烷产量已达 21.91 Mt CO_2 -eq, 预计到 2020 年将达到 28.32 Mt CO_2 -eq^[6]。本文就目前采取的粪尿管理措施提出两种优化方案。第一, 继续大力推广沼气能环工程, 将粪尿中的有机质转换成价值高的沼气, 充分有效地利用能源, 但该项目成本较高。为解决资金上的困难, 可充分发挥我国在世界碳贸易中作为卖家的优势, 与国际合作, 在京都议定书框架下开发清洁能源发展机制项目。第二, 结合当前的干湿分离清粪法, 将干粪有机质作为特种养殖的基质, 生产蝇蛆和蚯蚓等, 后者不仅可作为高质量的饲料添加剂, 还能生产生物制剂, 增加产品附加值。为推广该粪尿处理模式, 目前还需对蝇蛆和蚯蚓在以粪便为基质上的最适生长条件进行系统研究, 并使生产过程标准化, 形成一条新的产业链。

随着我国畜牧业的快速发展, 排放的甲烷对温室效应的影响日趋加大, 开展反刍家畜胃肠道甲烷减排控制技术的研究和新型粪尿处理模式的推广, 对于实现畜牧业节能减排和动物健康养殖、确保动物性产品品质以及改善环境均具有重要意义。

参考文献

- [1] Climate Change 2007: Synthesis Report, Summary for Policymakers[R]//Intergovernmental Panel on Climate Change Fourth Assessment Report. Valencia, Spain, 2007
- [2] de la Chesnaye F. C., Delhotal C., DeAngelo B., *et al.* Past, Present, and Future of Non-CO₂ Gas Mitigation Analysis[R]// In Human-Induced Climate Change: An Interdisciplinary Assessment. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2006
- [3] IPCC. Climate Change 2001: The Scientific Basis, Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change[R]. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2001
- [4] Crutzen P. J., Aselmann I., Seiler W. Methane production by domestic animals, wild ruminants, other herbivorous fauna, and humans[J]. *Tellus, Series B: Chemical and Physical Meteorology*, 1986,38(3): 271–284
- [5] 中华人民共和国国家统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京: 中国统计出版社, 2006: 485–487
- [6] Office of Atmospheric Programs Climate Change Division (6202J) U.S. Environmental Protection Agency. Global Anthropogenic Non-CO₂ Greenhouse Gas Emissions: 1990–2020[R]. Washington, DC: 2006
- [7] Hungate R. E., Smith W., Bauchop T., *et al.* Formate as an intermediate in the bovine rumen fermentation[J]. *J. Bacteriol.*, 1970, 102(2): 389–397
- [8] Samuel B. S., Hansen E. E., Manchester J. K., *et al.* Genomic and metabolic adaptations of *Methanobrevibacter smithii* to the human gut[J]. *PNAS*, 2007, 104(25): 10643–10648
- [9] 全国农业技术推广服务中心. 中国有机肥料养分志[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999
- [10] Kashyap D. R., Dadhich K. S., Sharma S. K. Biomethanation under psychrophilic conditions: A review[J]. *Bioresource Technology*, 2003, 87(2): 147–153
- [11] Monteny G. J., Groenestein C. M., Hilhorst M. A. Interactions and coupling between emissions of methane and nitrous oxide[J]. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2001, 60(1/3): 123–132
- [12] Ferry J. G. Enzymology of one-carbon metabolism in methanogenic pathways[J]. *FEMS Microbiol. Rev.*, 1999, 23(1): 13–38
- [13] Wackett L., Ma J. Methanogenesis pathway map[OL]. http://umbdd.msi.umn.edu/meth/meth_map.html, 2006
- [14] Shin E. C., Choi B. R., Lim W. J., *et al.* Phylogenetic analysis of archaea in three fractions of cow rumen based on the 16S rDNA sequence[J]. *Anaerobe*, 2004, 10(6): 313–319
- [15] Miller T. L., Wolin M. J. Inhibition of growth of methane-producing bacteria of the ruminant forestomach by hydroxymethylglutaryl SCoA reductase inhibitors[J]. *J. Dairy Sci.*, 2001, 84(6): 1445–1448
- [16] IPCC. Climate Change 1995: Impacts, Adaptations, and Mitigation of Climate Change: Scientific-Technical Analyses[R]. Contribution of Working Group II to the Second Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge and New York: Cambridge University Press, 1996: 880
- [17] Harper L. A., Denmead O. T., Freney J. R., *et al.* Direct measurements of methane emissions from grazing and feedlot cattle[J]. *J. Anim. Sci.*, 1999, 77(6): 1392–1401
- [18] Getachew G., Robinson P. H., DePeters E. J., *et al.* Methane production from commercial dairy rations estimated using an in vitro gas technique[J]. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2005, 123/124: 391–402
- [19] Johnson K. A., Johnson D. E. Methane emissions from cattle[J]. *J. Anim. Sci.*, 1995, 73(8): 2483–2492
- [20] Beauchemin K. A., McGinn S. M. Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets[J]. *J. Anim. Sci.*, 2005, 83(3): 653–661
- [21] Lovett D. K., Stack L. J., Lovell S., *et al.* Manipulating enteric methane emissions and animal performance of late-lactation dairy cows through concentrate supplementation at pasture[J]. *J. Dairy Sci.*, 2005, 88(8): 2836–2842
- [22] Gijzen H. J., Broers C. A. M., Barughare M., *et al.* Methanogenic bacteria as endosymbionts of the ciliate *nyctotherus ovalis* in the cockroach hindgut[J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1991, 57(6): 1630–1634
- [23] Morgavi D. P., Jouany J. P., Martin C., *et al.* Archaeal community structure diversity in the rumen of faunated and defaunated sheep[J]. *International Congress Series*, 2006, 1293: 127–130
- [24] McGuffey R. K., Richardson L. F., Wilkinson J. I. D. Ionophores for dairy cattle: Current status and future outlook[J]. *J. Dairy Sci.*, 2001, 84(E. Suppl.): E194–E203
- [25] Sauer F. D., Fellner V., Kinsman R., *et al.* Methane output and lactation response in Holstein cattle with monensin or unsaturated fat added to the diet[J]. *J. Anim. Sci.*, 1998, 76(3): 906–914
- [26] Slyter L. L. Monensin and dichloroacetamide influences on methane and volatile fatty acid production by rumen bacteria in vitro[J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1979, 37(2): 283–288
- [27] Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., *et al.* Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation[J]. *J. Dairy Sci.*, 2006, 89(2): 761–771
- [28] Wolin M. J., Miller T. L. Control of rumen methanogenesis by inhibiting the growth and activity of methanogens with hydroxymethylglutaryl-ScoA inhibitors[J]. *International Congress*

- Series, 2006, 1293: 131–137
- [29] Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., *et al.* Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation[J]. *J. Dairy Sci.*, 2005, 88(12): 4393–4404
- [30] Mohammed N., Ajisaka N., Lila Z. A., *et al.* Effect of Japanese horseradish oil on methane production and ruminal fermentation in vitro and in steers[J]. *J. Anim. Sci.*, 2004, 82(6): 1839–1846
- [31] Wang Y., McAllister T. A., Yanke L. J., *et al.* Effect of steroidal saponin from *Yucca schidigera* extract on ruminal microbes[J]. *J. Appl. Microbiol.*, 2000, 88(10): 887–896
- [32] Jordan E., Lovett D. K., Monahan F. J., *et al.* Effect of refined coconut oil or copra meal on methane output and on intake and performance of beef heifers[J]. *J. Anim. Sci.*, 2006, 84(1): 162–170
- [33] Jordan E., Kenny D., Hawkins M., *et al.* Effect of refined soy oil or whole soybeans on intake, methane output, and performance of young bulls[J]. *J. Anim. Sci.*, 2006, 84(9): 2418–2425
- [34] McGinn S. M., Beauchemin K. A., Coates T., *et al.* Methane emissions from beef cattle: Effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid[J]. *J. Anim. Sci.*, 2004, 82(11): 3346–3356
- [35] Puchala R., Min B. R., Goetsch A. L., *et al.* The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats[J]. *J. Anim. Sci.*, 2005, 83(1): 182–186
- [36] Van Kessel J. A. S., Russell J. B. The effect of pH on ruminal methanogenesis[J]. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 1996, 20(4): 205–210
- [37] Joseph W. S., Madeline E. R. Purification, overproduction, and partial characterization of β -RFAP synthase, a key enzyme in the methanopterin biosynthesis pathway[J]. *J. Bact.*, 2002, 184(16): 4442–4448
- [38] Wood J. M., Kennedy F. S., Wolfe R. S. The reaction of multihalogenated hydrocarbons with free and bound reduced vitamin B₁₂[J]. *Biochemistry*, 1968, 7(5): 1707
- [39] Trei J. E., Parish R. C., Singh Y. K., *et al.* Effect of methane inhibitors on rumen metabolism and feedlot performance of sheep[J]. *J. Dairy Sci.*, 1971, 54(4): 536–540
- [40] Mills J. A. N., Dijkstra J., Bannink A., *et al.* A mechanistic model of whole-tract digestion and methanogenesis in the lactating dairy cow: Model development, evaluation, and application[J]. *J. Anim. Sci.*, 2001, 79(6): 1584–1597
- [41] Asanuma N., Iwamoto M., Hino T. Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganisms in vitro[J]. *J. Dairy Sci.*, 1999, 82(4): 780–787
- [42] Morvan B., Bonnemoy F., Fonty G., *et al.* Quantitative determination of H₂-utilizing acetogenic and sulfate-reducing bacteria and methanogenic archaea from digestive tract of different mammals[J]. *Curr. Microbiol.*, 1996, 32(30): 129–133
- [43] Fonty G., Joblin K., Chavarot M., *et al.* Establishment and development of ruminal hydrogenotrophs in methanogen-free lambs[J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007, 73(20): 6391–6403
- [44] Sar C., Mwenya B., Santoso B., *et al.* Effect of *Escherichia coli* wild type or its derivative with high nitrite reductase activity on in vitro ruminal methanogenesis and nitrate/nitrite reduction[J]. *J. Anim. Sci.*, 2005, 83(3): 644–652
- [45] Iwamoto M., Asanuma N., Hino T. Ability of *Selenomonas ruminantium*, *Veillonella parvula*, and *Wolinella succinogenes* to reduce nitrate and nitrite with special reference to the suppression of ruminal methanogenesis[J]. *Anaerobe*, 2002, 8(4): 209–215
- [46] Lila Z. A., Mohammed N., Yasui T., *et al.* Effects of a twin strain of *Saccharomyces cerevisiae* live cells on mixed ruminal microorganism fermentation in vitro[J]. *J. Anim. Sci.*, 2004, 82(6): 1847–1854
- [47] Mutsvangwa T., Edwards I. E., Topps J. H., *et al.* The effect of dietary inclusion of yeast culture (Yea-Sacc) on patterns of rumen fermentation, food intake and growth of intensively fed bulls[J]. *Anim. Prod.*, 1992, 55(1): 35–40
- [48] Niemann H., Lösekann T., de Beer D., *et al.* Novel microbial communities of the Haakon Mosby mud volcano and their role as a methane sink[J]. *Nature*, 2006, 443(7113): 854–858