

Comment réduire la production de méthane chez les ruminants ?

C. Martin, D. Morgavi, M. Doreau, J.P. Jouany

Unité de Recherches sur les Herbivores, INRA Theix, F-63122 Saint-Genès Champanelle ;
C. Martin : cecile@clermont.inra.fr

Résumé

Les ruminants produisent du méthane lors des fermentations des aliments dans le rumen, contribuant pour 3% environ au réchauffement de la planète. Le méthane est une voie d'élimination de l'hydrogène produit dans le rumen lors de la fermentation des glucides ; sa production constitue une perte d'énergie pour l'animal. Elle peut être limitée si d'autres voies métaboliques ruminales sont sollicitées. Ce texte discute les principaux moyens de réduire la méthanogénèse chez les ruminants, en commençant par les moyens plus spécifiques (additifs) pour ensuite aborder les moyens plus globaux (ration, animal...).

L'effet de multiples additifs a été étudié dans le but de réduire la production de méthane. Ils agissent le plus souvent en réduisant ou inhibant les micro-organismes méthanogènes (antibiotiques, substances chimiques diverses) et/ou en modifiant les orientations métaboliques dans le rumen (acides organiques, peptides, extraits de plantes). Les premiers sont d'une efficacité partielle et présentent des risques de toxicité ou sanitaires ; l'efficacité et/ou l'intérêt économique des seconds restent à confirmer. Diverses tentatives biotechnologiques ont été proposées : sélection des micro-organismes du rumen (par élimination des protozoaires ou par inoculation de souches bactériennes exogènes) et vaccination contre les micro-organismes méthanogènes. Leur efficacité sur le long terme n'est pour l'instant pas démontrée.

Les émissions de méthane sont réduites lorsque les quantités ingérées par l'animal augmentent et lorsqu'il reçoit une alimentation riche en concentré, donc pauvre en parois végétales. L'apport de lipides riches en acides gras polyinsaturés (acide linoléique, présent en particulier dans la graine de lin) réduit significativement la méthanogénèse. Les possibilités d'amélioration génétique ainsi que l'effet de la modification des systèmes d'élevage sont discutés. L'intensification des productions, obtenue en particulier grâce à des animaux à fort potentiel se traduit par une diminution sensible de la production de méthane par unité de produit animal (kg de lait ou de viande). Cette possibilité concrète et immédiate de réduire la méthanogénèse est toutefois en opposition avec la demande sociétale qui va dans le sens d'une agriculture plus extensive pour la qualité de ses produits, l'entretien des territoires et la préservation de l'environnement qu'elle assure.

1. Contribution des ruminants à la production de méthane

Dans le cadre des négociations liées au protocole de Kyoto, l'Union Européenne à quinze s'est engagée en 2001 à Bonn, à une réduction de 8% des émissions de gaz à effet de serre (GES) pour la période 2008-2012. La mesure porte sur les principaux gaz à effet de serre impliqués dans le changement climatique : dioxyde de carbone (CO₂), méthane (CH₄), protoxyde d'azote (N₂O) et trois carbures halogénés (CFC, HFC, PFC).

En ce qui concerne le CH₄, son pouvoir de réchauffement est 20 fois plus élevé par unité de volume (60 fois par unité de poids) que celui du CO₂. Bien que sa concentration dans l'atmosphère soit très inférieure à celle du CO₂, **la contribution du CH₄ à l'effet de serre global, de l'ordre de 20%, est significative** (IPCC, 1992). Elle est due à différents mécanismes de production en milieu anaérobie. L'agriculture contribue à elle seule pour environ 50% à l'ensemble des émissions de CH₄, les ¾ étant couverts par les activités liées à la riziculture et à l'élevage (MOSS *et al.*, 2000).

La part relative de l'agriculture dans les émissions de CH₄ a eu tendance à augmenter au cours de ces dernières années, notamment parce que celle d'origine industrielle a diminué. Si **à l'échelle mondiale** les rizières sont une source importante de CH₄ issu de l'agriculture, en Europe, la quasi-totalité des émissions de CH₄ d'origine agricole provient de l'activité d'élevage, et plus précisément des fermentations digestives des herbivores (87%) et des déjections animales (11%) (BATES, 2001). Les émissions totales de méthane d'origine digestive par les herbivores **en France** s'élèvent à environ 2 milliards de m³ par an (soit 1,45 millions de tonnes/an), avec **une contribution très importante des ruminants et plus particulièrement des bovins** (91% selon VERMOREL, 1995a). Bien que ces émissions de méthane par les bovins soient impressionnantes en valeur absolue, il est important d'en relativiser la portée ; **les ruminants participent à hauteur de 3% au réchauffement de la planète**. Des données très récentes (KEPLER *et al.*, 2006) font état d'émissions directes importantes de méthane par les plantes vertes en milieu naturel aérobie qui varieraient de 62 à 236 10⁶ t/an, selon des mécanismes biochimiques inconnus. Ces valeurs, comparées aux 600 10⁶ t d'émissions annuelles totales de CH₄, relativisent l'importance de la contribution des ruminants dont les rejets sont estimés à environ 80 10⁶ t/an au niveau planétaire.

Comparée au méthane, la quantité de CO₂ rejetée dans l'atmosphère par les ruminants (20% d'origine fermentaire et 80% d'origine métabolique) est en moyenne 11 fois plus importante en termes de volume. Mais **la contribution des ruminants à l'effet de serre via leur production en CO₂ est considérée comme négligeable**, ce gaz étant recyclé lors de la photosynthèse par les végétaux que les animaux consomment. Cet aspect ne sera donc pas abordé dans ce document.

Chez le ruminant, le CH₄ est un produit formé naturellement pendant le processus de fermentation microbienne des aliments dans le rumen, situé au début du tube digestif. **Le méthane ainsi produit est rejeté dans l'atmosphère par voie orale (95%), au cours d'éructions régulières et par les poumons après passage dans le sang**, mais très peu par flatulences (5%) contrairement à une affirmation courante.

Outre l'aspect environnemental, le méthane éructé constitue pour le ruminant une perte en énergie sous forme gazeuse estimée à environ 8-12% de l'énergie brute ingérée. **La réduction de la méthanogenèse présente donc non seulement un intérêt environnemental pour l'homme et la planète, mais aussi un intérêt nutritionnel pour le ruminant.**

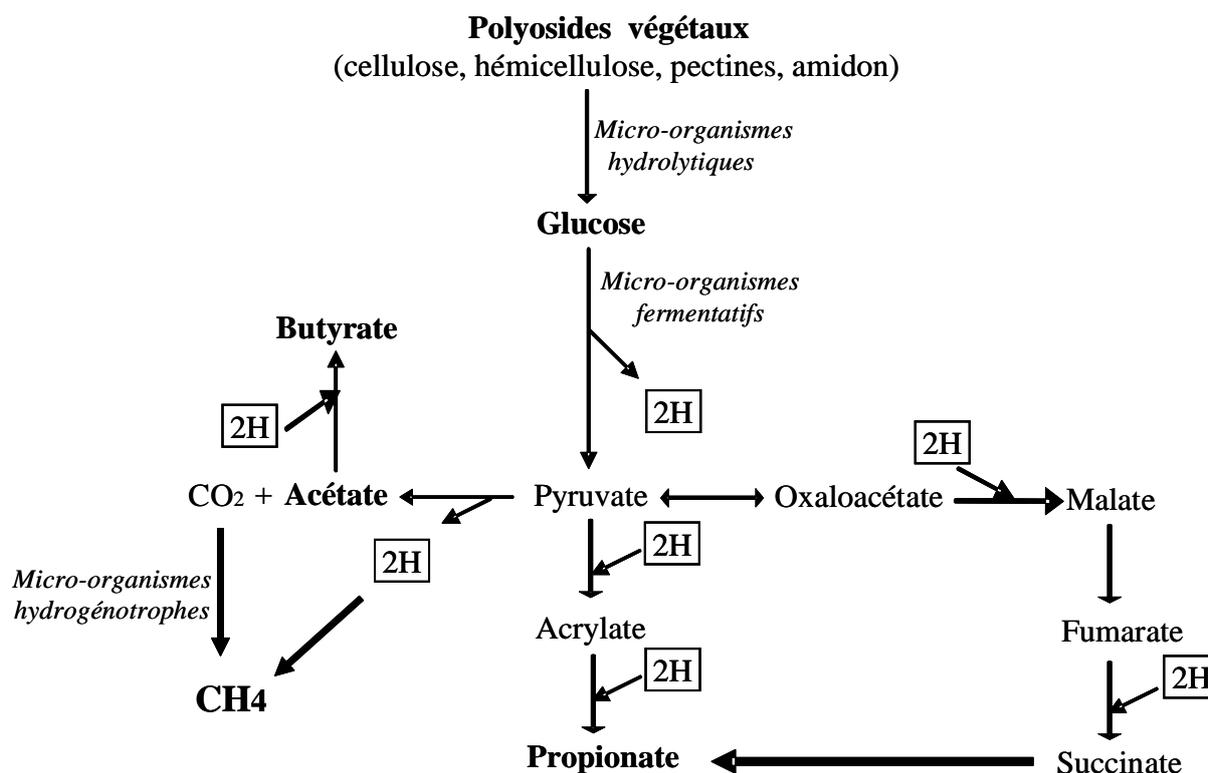
Ce document a pour objectif d'examiner les moyens de réduire la production digestive de méthane par les ruminants sans pour autant altérer la production animale. Il est donc important d'évaluer leurs effets sur les émissions globales de CH₄ mais aussi en rapportant la formation de CH₄ par unité de produit animal élaboré (lait ou viande). Parallèlement, la faisabilité des solutions proposées sera discutée.

2. Les mécanismes de la méthanogenèse ruminale

Les aliments ingérés par les ruminants séjournent pendant 20 à 30 heures dans le rumen où vit une population microbienne anaérobie dense (> 10¹⁰ cellules/ml) et variée (plusieurs milliers d'espèces de bactéries, de protozoaires et de champignons). Environ 70% de la digestion totale a lieu dans le rumen, ce qui donne à cet organe un rôle majeur dans l'utilisation des aliments par le ruminant.

Les micro-organismes colonisent les particules alimentaires en quelques minutes et, grâce à leurs dépolymérases, dégradent les polysides végétaux (cellulose, hémicelluloses, pectines, et amidon) en oses (glucose, xylose) qui sont ensuite fermentés pour produire des **acides gras volatils** (acétate, propionate, butyrate), du **CO₂** et de **l'hydrogène** (figure 1). Dès sa formation, l'hydrogène est rapidement utilisé par des micro-organismes hydrogénotrophes appelés archae-bactéries qui appartiennent à une branche particulière dans la classification systématique des bactéries, pour former du CH₄. L'orientation des fermentations microbiennes joue un rôle déterminant sur le métabolisme de l'hydrogène dans le rumen. La formation d'acétate s'accompagne d'une production d'hydrogène et donc de méthane alors que celle du propionate est consommatrice d'hydrogène. La production du butyrate à partir de l'acétate utilise également de l'hydrogène.

FIGURE 1 – Fermentation des glucides alimentaires dans le rumen conduisant à la production de méthane.



Les acides gras volatils sont absorbés dans la circulation sanguine et fournissent environ 70% des besoins énergétiques des ruminants. Les gaz sont éliminés par voie orale. En outre, l'énergie produite sous forme d'ATP au cours des réactions de fermentation est utilisée par les micro-organismes pour synthétiser leurs éléments cellulaires qui seront ensuite digérés dans l'intestin grêle et contribueront à hauteur de 50 à 90% à la fourniture totale des acides aminés à l'animal hôte.

En milieu anaérobie comme le rumen, les réactions d'oxydation nécessaires à la genèse de l'ATP conduisent à la production d'hydrogène métabolique (2H). Ce dernier doit être éliminé au fur et à mesure de sa production car une élévation de la pression partielle en hydrogène dans le milieu inhiberait l'action des déshydrogénases dans le processus d'oxydation. L'utilisation continue de l'hydrogène dans le rumen est assurée par les archae méthanogènes pour réduire une partie du CO₂ en méthane.

On peut donc considérer que la méthanogenèse est une voie métabolique essentielle dans l'élimination de l'hydrogène ruminal. Il est admis qu'une réduction de 20% du méthane digestif ne perturbe pas les fonctions digestives ou fermentaires essentielles du rumen. Au-delà, une réduction de la méthanogenèse ne peut être envisagée que si l'hydrogène est métabolisé par d'autres voies, conduisant par exemple à la synthèse de propionate ou de butyrate (figure 1).

Bien qu'anaérobies, les fermentations lactique et alcoolique, qui nécessitent également l'utilisation d'hydrogène métabolique, sont normalement peu actives dans le rumen. Toutefois, des rations riches en glucides facilement fermentescibles peuvent conduire à une production anormalement élevée d'acide lactique à l'origine d'une pathologie digestive appelée "acidose ruminale". Les pH bas observés avec ce type de régime inhibent la croissance (HEGARTY, 1999) et l'activité des micro-organismes méthanogènes (LANA *et al.*, 1998).

Comme la méthanogénèse, la production d'acétate par la voie de l'acétogénèse réductrice correspond à une réduction du CO₂ par H₂ [2CO₂ + 4H₂ → CH₃-COOH + 2H₂O]. Elle a été mise en évidence dans le gros intestin du ruminant mais n'intervient qu'à un niveau faible dans le rumen. En revanche, elle est dominante dans le tube digestif de l'homme, du rat, des hamsters et des lapins.

3. Moyens de réduire la production digestive de méthane des ruminants

Toute orientation fermentaire qui augmentera l'utilisation de l'hydrogène métabolique ou qui en diminuera la production sera utile pour réduire la méthanogénèse. Cette évolution pourra être obtenue en agissant de manière spécifique par le contrôle de la population microbienne à l'aide d'additifs ou de manière plus globale au niveau de la ration et de l'animal.

3.1. Emploi d'additifs ou de manipulations biotechnologiques

Les moyens proposés ci-dessous pour diminuer la méthanogénèse ruminale ont été classés en additifs de type antibiotique, chimique ou naturel d'une part, et en manipulations biotechnologiques de l'écosystème microbien d'autre part.

3.1.1. Les additifs

- **Les antibiotiques**

Les antibiotiques ionophores de type polyéther (monensin, lasalocide) ainsi que l'avoparcine qui est un glycopeptide non ionophore, ont une action inhibitrice significative sur les bactéries à Gram-positif (STEWART *et al.*, 1983). La sélection microbienne qui en résulte favorise la formation du propionate et diminue celle du méthane (BOGAERT *et al.*, 1989). L'effet inhibiteur des antibiotiques sur la méthanogénèse se maintient habituellement pendant plusieurs mois (JOUANY et LASSALAS, 1997).

La mise en évidence d'une résistance à la vancomycine, antibiotique de structure glycopeptidique à usage réservé au milieu hospitalier pour lutter contre des pathogènes résistants aux antibiotiques traditionnels, a été attribuée à l'utilisation abusive de l'avoparcine comme facteur de croissance en production animale. **Ce constat a conduit les autorités sanitaires de l'Europe à interdire la totalité des antibiotiques comme additif alimentaire à partir du 1^{er} janvier 2006, ce qui condamne définitivement l'utilisation de ces produits en alimentation animale.**

- **Les additifs chimiques**

Les diacides organiques (aspartate, malate ou fumarate) sont des précurseurs potentiels de succinate et de propionate qui peuvent donc être utilisés pour diminuer la méthanogénèse lorsqu'ils sont ajoutés à la ration des ruminants (CALLAWAY et MARTIN, 1996). Sur la base de la réaction chimique de la méthanogénèse et si l'on admet une efficacité de fixation de l'hydrogène de 60% par les diacides organiques, il serait nécessaire de compléter les rations avec plus de 2 kg d'acide pour réduire de 10% la production de méthane chez une vache laitière rejetant 500 litres de méthane par jour (NEWBOLD et RODE, 2006), ce qui est inapplicable en raison des conséquences sur le pH ruminal et du coût du traitement. Différentes solutions sont en cours d'étude pour pallier ce problème. Récemment, WALLACE *et al.* (2006) ont étudié l'effet d'une encapsulation de l'acide fumarique. Comparé au lot témoin d'agneaux, le produit encapsulé distribué à hauteur de 10% de l'ingéré a entraîné une diminution de 75% de la production de CH₄ et une augmentation de l'efficacité alimentaire de 20% (g gain de poids/ kg ingéré). ASANUMA *et al.* (1999) proposent l'utilisation de sels d'acides pour limiter leur effet négatif sur le pH ruminal. Sur le plan réglementaire, bien que ces

acides soient largement employés en alimentation humaine et chez les animaux monogastriques, leur utilisation comme additif en alimentation des ruminants devra faire l'objet d'une autorisation délivrée par l'autorité européenne EFSA (cf. directive n° 1831/2003).

Des peptides riches en acides aminés soufrés (thiopeptine, thiopeptide A 10255) ont des effets dans le rumen similaires à ceux des antibiotiques et pourraient donc les remplacer pour réduire la production de méthane (TUNG *et al.*, 1992). Ces résultats obtenus *in vitro* n'ont toutefois pas été confirmés *in vivo*. La cystéine, qui est un acide aminé soufré, semble agir de façon similaire au thiopeptine et diminue de près de 15% la production de méthane chez les ovins (TAKAHASHI *et al.*, 1997).

De nombreux autres additifs chimiques ont été testés. Le **9,10 anthraquinone**, un composé qui agit directement sur la croissance des méthanogènes, diminue la production de méthane *in vivo* sans effets secondaires sur la santé animale et sans adaptation apparente de l'écosystème ruminal (KUNG *et al.*, 2003). L'**acide 2-bromoethane-sulfonique (BES)** a une structure chimique proche du coenzyme M et rentre en compétition avec lui pour le transfert de groupements méthyl dans la synthèse du méthane, entraînant donc une réduction de sa production (BALCH et WOLFE, 1979). Les **analogues halogénés du méthane** (chloroforme, hydrate de chloral, bromochlorométhane, bromure de méthylène) inhibent les archae-bactéries et donc la production de méthane (VAN NEVEL et DEMEYER, 1995). Les **sulfates et nitrates** sont des accepteurs d'électrons qui diminuent la disponibilité en hydrogène (VAN NEVEL *et al.*, 1970). Ces différents additifs sont peu prometteurs en terme d'utilisation sur le terrain pour le moment, car leur efficacité *in vivo* est mal connue, limitée et/ou transitoire, et le risque de toxicité qu'ils présentent est potentiel ou prouvé.

- **Les extraits de plantes**

De nombreux essais sont actuellement conduits dans le monde sur les extraits des métabolites secondaires des plantes, utilisés comme moyen de manipuler la fonction digestive des ruminants. **Certaines plantes ou extraits de plantes** peuvent en effet modifier l'orientation des fermentations ruminales par leurs propriétés bactéricides et avoir des effets voisins de ceux obtenus avec les antibiotiques bien que les micro-organismes ciblés soient différents (BUSQUET *et al.*, 2005). Contrairement aux antibiotiques et aux additifs chimiques, ce type de produit bénéficie d'une bonne image en raison d'une origine naturelle. Les études sur les extraits végétaux ont été réalisées essentiellement *in vitro*. Ainsi, les extraits d'ail, de piment, de yucca et de cannelle (CARDOZO *et al.*, 2004), de rhubarbe et de bourdaine (GARCIA-GONZALEZ *et al.*, 2006), le sérum de luzerne obtenu après pressage de luzerne fraîche et élimination des protéines par floculation (JOUANY *et al.*, 2005), ont provoqué une diminution de la méthanogenèse.

3.1.2. Manipulations biotechnologiques de l'écosystème microbien ruminal

- **La défaunation (élimination des protozoaires) du rumen**

L'élimination des protozoaires du rumen (ou défaunation) permet à la fois de diminuer la production d'hydrogène et de supprimer la fraction d'archae méthanogènes fixée à la surface et dans les cellules des protozoaires ciliés, ce qui explique la baisse de la méthanogenèse de 30 à 45% généralement observée après défaunation du rumen (VERMOREL et JOUANY, 1989). Cependant, des études récentes conduites à l'INRA ont montré que l'effet de la défaunation sur la production de méthane disparaît après une longue période (environ 12 mois selon RANILLA *et al.*, 2004). En outre, la défaunation améliore la digestion de l'azote mais diminue celle des parois végétales.

Sur un plan pratique, la défaunation peut être obtenue à l'aide d'agents chimiques doués de pouvoir tensio-actif puissant (ARGYLE et FORSTER, 1988), d'extraits de plantes riches en saponines (NAVAS-CAMACHO *et al.*, 1994 ; TEFEREDEGNE *et al.*, 1999), ou d'acides gras (DOHME *et al.*, 2001). Il est vraisemblable que les agents chimiques utilisés pour défauner ne seront pas autorisés compte tenu de leur toxicité éventuelle à l'égard des animaux et de leur possible transfert dans les produits animaux destinés à la consommation humaine. Il est difficile de savoir si les saponines peuvent avoir un intérêt pratique compte tenu de leur toxicité potentielle et de la diminution de l'effet "anti-protozoaire" avec la durée de leur distribution (TEFEREDEGNE *et al.*, 1999). Par ailleurs, ces produits devront être traités à l'avenir comme des additifs alimentaires avec toutes les contraintes

réglementaires que cela impose si une allégation est revendiquée concernant leurs propriétés biologiques. Le coût de préparation des dossiers de demande d'autorisation risque de dissuader les pétitionnaires.

- **Les agents biologiques**

L'effet des probiotiques sur la production de méthane est difficile à apprécier car les résultats bibliographiques sont variables. Certains auteurs ont mis en évidence une diminution de la méthanogenèse chez les animaux traités par *Aspergillus oryzae* (FRUMHOLZ *et al.*, 1989) ou *Saccharomyces cerevisiae* (MUTSVANGWA *et al.*, 1992) ; d'autres n'ont pas observé d'effet (MATHIEU *et al.*, 1996) ou ont noté une augmentation de la production de méthane (TAKAHASHI *et al.*, 1997). Il faut cependant préciser que peu d'études ont été entreprises jusque là sur les probiotiques avec l'objectif ciblé de réduire la méthanogenèse. Leur faible coût, de l'ordre de 0,03€/jour/vache permet d'envisager leur utilisation dans le cas où leur efficacité est démontrée.

L'ajout de **bactéries acétogènes** dans le rumen (*Peptostreptococcus productus* ATCC 35244) stimule la voie d'acétogenèse réductrice à la condition stricte que les bactéries méthanogènes aient été préalablement inhibées par l'ajout de BES (NOLLET *et al.*, 1997a) ou de probiotique (bactérie *Lactobacillus plantarum* 80, NOLLET *et al.*, 1997b). MORVAN *et al.* (1994) ont montré que les acétogènes colonisent rapidement le rumen du jeune animal (~20 h après la naissance) et que l'acétogenèse réductrice est active jusqu'à l'apparition des méthanogènes (~30 h après la naissance). Ces données indiquent qu'une compétition existe entre les méthanogènes et les acétogènes pour l'utilisation de l'hydrogène dans le rumen et que les méthanogènes sont toujours dominantes. La faible affinité des acétogènes pour l'hydrogène en comparaison de celle des méthanogènes d'une part, et leur caractère hétérotrophe qui les incite à utiliser d'autres sources de carbone que le CO₂ d'autre part, sont à l'origine de la faible contribution des acétogènes à la fixation de l'hydrogène ruminal. JOBLIN (1999) a proposé différents moyens susceptibles de stimuler l'activité des acétogènes qui concurrencerait significativement celle des méthanogènes mais l'auteur considère qu'il est prématuré d'envisager une telle solution sur le plan pratique.

Bien que le rumen soit un milieu fortement anaérobie (Eh = -300 mV), des **bactéries capables d'oxyder le méthane** ont pu en être isolées (STOCK et MCCLESKEY, 1964). La part de CH₄ naturellement oxydé dans le rumen ne représente que 0,2 à 0,5% du méthane produit (KAJIKAWA *et al.*, 2003) et la possibilité de l'augmenter reste faible. Une bactérie oxydante de méthane, préalablement isolée du tube digestif de porcelet, a pu réduire la production de méthane dans un rumen artificiel (VALDEZ *et al.*, 1996), mais ce résultat n'a pas pu être validé *in vivo*. En outre, cette approche ne présente pas d'intérêt au niveau des pertes de carbone et d'énergie pour l'animal puisque le CH₄ est transformé en CO₂.

Les bactériocines sont constituées de chaînes courtes de polypeptides produites par des bactéries et ont des activités antibiotiques dirigées contre d'autres bactéries. La diminution de la production de méthane suite à l'utilisation de bactériocines a été montrée *in vitro* (LEE *et al.*, 2002) illustrant les potentialités de cette approche. Les molécules testées dans ces travaux agissaient principalement sur les bactéries à Gram positif qui produisent des quantités importantes d'hydrogène. Le développement de phénomènes de résistance par les bactéries cibles peut constituer une limite à l'application de cette technologie.

Une technique de **vaccination** de ruminants contre les méthanogènes a été développée en Australie au cours des 5 dernières années. Elle a permis de réduire de 8% la production de méthane sans effet négatif apparent sur les animaux (WRIGHT *et al.*, 2004). Le vaccin ne serait toutefois efficace que sur une fraction des archae méthanogènes (HEGARTY, 2001) et l'effet à long terme n'est pas connu.

3.2. Modification du système d'élevage

Le méthane étant principalement formé au niveau du rumen, on peut admettre que sa production sera étroitement liée à la quantité de matière organique fermentée dans ce compartiment digestif. Toutefois cette tendance est à moduler en fonction de la composition chimique des régimes. Par ailleurs, l'augmentation du niveau d'ingestion des animaux réduit le temps de séjour des aliments

dans le rumen, ainsi que la part de la digestion de la matière organique dans le rumen et, de ce fait, la méthanogénèse, de 10% environ lorsque les quantités ingérées doublent (VERMOREL, 1995b).

3.2.1. Au niveau de la ration

- **Les concentrés**

Par opposition aux glucides des parois végétales, les glucides rapidement fermentescibles sont à l'origine d'une orientation des fermentations ruminales vers la formation de propionate qui, comme cela a été dit précédemment, mobilise l'hydrogène métabolique et diminue la production de méthane. En outre, l'addition ou la substitution partielle de concentré à un fourrage entraîne une diminution de la digestion des parois végétales dans le rumen (interaction digestive négative) et donc de la méthanogénèse. Ceci a largement été démontré, par exemple par WEBSTER *et al.* (1975) qui ont observé que l'émission de méthane par des moutons, rapportée à l'énergie brute ingérée, était réduite de moitié entre une ration de graminées et une ration à 80% d'orge. Les pertes énergétiques sous forme de méthane (exprimées en % de l'énergie brute ou digestible) diminuent de façon curvilinéaire avec la quantité de concentré dans la ration. Elles sont relativement constantes pour des niveaux d'apport de concentré faibles, mais elles chutent au-delà de 40% de concentré dans le régime (VERMOREL, 1995b). Si l'on considère maintenant la nature du concentré, l'effet dépressif de la supplémentation glucidique sur la méthanogénèse est d'autant plus important avec les concentrés riches en amidon (orge, blé, maïs) qu'avec les concentrés riches en parois digestibles (pulpe de betterave). Chez la vache laitière, le remplacement des pulpes de betteraves de l'aliment concentré (70% de la ration) par de l'orge a entraîné une diminution de 34% des pertes d'énergie sous forme de méthane (BEEVER *et al.*, 1989).

Les lipides peuvent remplacer partiellement les céréales pour accroître le niveau énergétique de la ration. Ils présentent l'avantage de ne pas modifier le pH ruminal et de pouvoir diminuer la méthanogénèse (JOUANY, 1994) mais également, lorsqu'ils sont riches en acides gras polyinsaturés, d'améliorer la valeur santé des produits animaux consommés par l'homme (CHILLIARD *et al.*, 2001). L'inhibition de la méthanogénèse dépend de la nature et de la quantité de lipides ajoutés, les acides gras étant plus efficaces que les triglycérides, et les acides gras longs polyinsaturés (en particulier l'acide linoléique, ALA), étant plus actifs que les acides gras saturés ou monoinsaturés. D'un point de vue pratique, la graine de lin, riche en ALA, peut être utilisée dans l'alimentation des ruminants. Sur animaux en production, un apport de lin a diminué la production de CH₄ de 10% chez des agneaux supplémentés avec 2,5% de lipides du lin (MACHMÜLLER *et al.*, 2000) et de 38% chez des moutons à l'entretien recevant une ration de foin supplémentée avec 5% d'huile de lin (CZERKAWSKI *et al.*, 1966). La quantité d'hydrogène utilisée pour réduire les acides gras insaturés n'intervient que de manière très limitée dans la diminution de la synthèse de méthane. L'ALA limiterait la méthanogénèse en inhibant les microorganismes producteurs (protozoaires, bactéries cellulolytiques) et/ou utilisateurs (archae-bactéries) de l'hydrogène ruminal. Les acides gras saturés à chaîne moyenne comme le C12:0 et le C14:0 présents dans l'huile de coprah ou de palmiste ont aussi des effets négatifs importants sur la population des archae-bactéries et des protozoaires et donc sur la production de méthane *in vitro* (SOLIVA *et al.*, 2004) et *in vivo* (MACHMÜLLER *et al.*, 2003). Les lipides ont un effet persistant sur la méthanogénèse mais ils peuvent également avoir une action négative sur la digestion de la matière organique et plus particulièrement de la fraction cellulosique de la ration dans le rumen lorsque ceux-ci sont incorporés à des niveaux importants (> 6% MS ingérée), ce qui peut constituer un facteur limitant à leur utilisation (IKWUEGBU et SUTTON, 1982).

- **Les fourrages**

Une herbe pâturée au stade début épiaison entraîne une émission de méthane plus faible de 10% que la même herbe pâturée à un stade avancé, et donc plus riche en parois et moins digestible (PINARES-PATIÑO *et al.*, 2003). L'herbe jeune pâturée contient également de l'ALA et, bien que sa teneur soit plus faible que celle du lin, les apports en ALA qu'elle représente peuvent être significatifs puisqu'elle peut constituer la totalité de la ration du ruminant. Un ensilage d'herbe récolté en coupe directe est également riche en acide linoléique. De plus, les quantités ingérées élevées et le transit rapide de l'herbe dans le rumen favoriseraient une diminution de la méthanogénèse. Ces fourrages

sont donc susceptibles de limiter la méthanogenèse, mais cela n'a pas été démontré. Les résultats cités ci-dessus vont toutefois dans ce sens, l'effet des lipides et du temps de séjour s'ajoutant à l'effet de la faible teneur en parois dans le cas de l'herbe jeune.

Les variations de digestibilité n'expliquent pas toutes les différences entre fourrages. L'introduction des légumineuses a permis une diminution de 10% de la production de CH₄ par kg de poids sur des bovins viande pâturant une prairie composée de 70% de luzerne et 30% de graminées ou de 100% de graminées (MCCAUGHEY *et al.*, 1999). Cet effet pourrait s'expliquer par un niveau d'ingestion plus élevé et un temps de séjour dans le rumen plus faible avec la luzerne. De plus, certaines légumineuses (sainfoin, lotier, sulla...) ont la propriété d'être riches en tanins condensés qui limitent à la fois la dégradation des protéines alimentaires et la méthanogénèse ruminale. A titre d'exemple, le lotier et le sulla ont diminué de 50 et 30% (g CH₄/kg gain de poids) respectivement, la méthanogenèse chez des agneaux en croissance (WAGHORN et CLARK, 2006). Ceci s'expliquerait par un effet direct des tanins sur l'activité des archae méthanogènes et un effet indirect en diminuant la digestion des parois végétales (TAVENDALE *et al.*, 2005).

3.2.2. Sélection génétique des animaux

La sélection génétique basée sur l'amélioration de l'efficacité alimentaire devrait logiquement aboutir à des animaux qui valorisent mieux l'énergie des rations et qui produisent donc moins de méthane. On peut envisager une sélection orientée plus spécifiquement sur la capacité des animaux à produire moins de méthane. Différents critères physiologiques peuvent être impliqués dans cet objectif :

- **Le temps de séjour des aliments**

Le temps de séjour des aliments dans le rumen (TSR) est un paramètre connu pour influencer la méthanogenèse. Une diminution du TSR limite le temps de contact des microorganismes avec les aliments, et par voie de conséquence les fermentations ruminales et la production de gaz. Le TSR est une caractéristique propre à chaque animal pouvant expliquer jusqu'à 1/3 des variations individuelles de production de méthane (OKINE *et al.*, 1989 ; PINARES-PATIÑO *et al.*, 2000). Une diminution de 30% de la méthanogenèse a été mesurée lorsque le TSR diminue de 15% (OKINE *et al.*, 1989). Ce phénomène est d'autant plus important que le régime est riche en concentré (VERMOREL, 1995b). La sélection d'animaux à faible TSR pourrait donc être un moyen de réduction de la production de CH₄. Parallèlement, une diminution du TSR favorise la production de propionate (voie consommatrice d'hydrogène) et la croissance microbienne dans le rumen. La sélection d'animaux sur le TSR présenterait donc de multiples avantages de production.

- **Capacité de valorisation d'une ration**

Il existe des variations individuelles entre animaux concernant leur capacité à valoriser une ration (ARTHUR *et al.*, 2001). L'idéal serait donc d'arriver à sélectionner des animaux qui consomment moins d'aliments (et donc produisent moins de CH₄) que leurs congénères tout en assurant un niveau de production comparable. Un tel objectif a été atteint en deux générations sur une race australienne de bovins viande (- 1,2 kg MS ingérée/kg de gain de poids) (HEGARTY, 2002). OKINE *et al.* (2001) ont évalué à 21% la réduction des émissions annuelle de méthane par de tels animaux.

- **Capacité à produire peu de CH₄**

Pour une même espèce animale recevant un même régime, des variations individuelles importantes de production de CH₄ par unité d'aliment ingéré (30-60%) ont été rapportées (DEMEYER, 1991 ; LASSEY *et al.*, 1997). Cette variabilité individuelle est encore mal connue, mais elle est probablement liée à un profil microbien ruminal différent entre animaux, en terme de composition et d'activité métabolique. Si ce phénomène s'avère persistant dans le temps, et donc être une caractéristique propre de l'animal, des recherches orientées sur la sélection d'animaux faibles producteurs de CH₄ pourront être envisagées. A l'heure actuelle, les données bibliographiques sur ce dernier point sont contradictoires et ne permettent pas de conclure si cette différence individuelle de production de CH₄ est un phénomène transitoire (PINARES-PATIÑO *et al.*, 2006b) ou permanent (GOOPY et HEGARTY, 2006).

En conclusion, il est important de souligner que les critères de sélection des bovins sont multiples, et qu'à l'heure actuelle ils sont essentiellement orientés vers des critères de production de lait ou de viande, éventuellement de qualité des produits. Aussi, la sélection génétique d'animaux en vue de diminuer la méthanogenèse reste, à notre sens, du domaine du long terme, d'autant plus que pour les trois pistes indiquées il est difficile de faire la part entre l'alimentation et la génétique.

3.2.3. Modulation du nombre d'animaux ou du mode de production

La réduction de la méthanogenèse n'est certainement pas le facteur décisif qui conduira l'éleveur à un changement radical de ses méthodes de production. **Cependant, une modulation du nombre d'animaux dans le troupeau ou du cycle de production est un moyen de diminuer leurs émissions de méthane.**

- ***Diminuer le nombre d'animaux pour une production donnée***

Comme l'énergie perdue sous forme de méthane diminue avec le niveau de production de l'animal, il est préférable, **pour une production donnée ou imposée (quotas laitiers par exemple), d'utiliser peu d'animaux à haut niveau de production, plutôt que beaucoup d'animaux à faible niveau.**

SAUVANT (1993) a estimé les émissions de méthane ramenées au litre de lait produit pour deux troupeaux produisant la même quantité totale de lait. Le premier, composé de 60 vaches à 4 000 litres de lait/an émettrait 109 kg de CH₄/vache/an soit 28 g de CH₄/l de lait. Le deuxième troupeau composé de 24 vaches à 10 000 l de lait/an émettrait 146 kg de CH₄/vache/an soit 15 g/l de lait. **La quantité de méthane émise par litre de lait est donc diminuée de moitié par une réduction du nombre d'animaux du troupeau.** Ceci entraîne bien sûr une intensification du mode de production, l'augmentation de la productivité des vaches allant de pair avec un accroissement de la proportion de concentré dans la ration.

- ***Chargement au pâturage***

Le niveau de chargement d'une parcelle (1,2 vs 2,1 bovins de 450 kg par ha) n'a pas modifié significativement la production individuelle de CH₄ mesurée pendant deux saisons consécutives de pâturage. Rapportées au poids de l'animal, les émissions de CH₄ étaient également comparables entre les deux traitements (PINARES-PATIÑO et al., 2006a). Si ces résultats se confirment et que la qualité du couvert végétal exploité extensivement n'est pas altérée sur le long terme, un tel mode de gestion des surfaces herbagères apparaît intéressant car en accord avec la demande sociétale actuelle.

- ***Moduler le mode de production***

Pour les bovins viande, la quantité de méthane émise par kilogramme de carcasse augmente avec la durée d'engraissement en raison de la diminution de la vitesse de croissance avec l'âge de l'animal. L'engraissement d'un taurillon jusqu'à 19 mois (700 kg) entraîne l'émission de 580 litres CH₄/kg carcasse alors que celui d'un bœuf de 40 mois (690 kg) est à l'origine de 2 fois plus de CH₄ (1 040 l/kg carcasse) (VERMOREL, 1995a). Cette proposition contribue à améliorer l'efficacité alimentaire dans son ensemble et va dans le sens d'une intensification de la production de jeunes animaux.

Pour des vaches laitières d'un niveau de production donnée, une diminution de la méthanogenèse par litre de lait passe par une augmentation du nombre de lactations au cours de la carrière de l'animal. Diminuer le taux de réforme des vaches implique pour l'éleveur de diminuer le nombre de génisses de remplacement dans le troupeau. De ce fait, l'impact de la production de CH₄ par les génisses non productrices de lait pendant la période d'élevage est réduit. JOHNSON *et al.* (2002) ont calculé qu'une diminution de 10% du taux de réforme diminue de 5% la production de CH₄. Cependant, un ralentissement du rythme des réformes ne permet pas de profiter de l'accroissement du potentiel génétique des vaches qui est un facteur permettant de réduire la méthanogenèse, car elle nécessite une conduite alimentaire plus intensive.

3.2.4. Intensification du système d'élevage

L'augmentation du niveau d'ingestion et celle du pourcentage de concentré allant dans le sens d'une réduction de la méthanogenèse, il est clair que l'intensification de la production, passant en particulier par une augmentation du niveau de production des animaux, contribue à limiter la quantité de méthane rapportée à l'unité de produit animal (litre de lait, kg de viande). JOHNSON *et al.* (2000) ont comparé deux systèmes de production laitiers (californien et néo-zélandais) se différenciant par le niveau de production des animaux (8 984 vs 3 444 kg lait/an, respectivement), leur niveau d'ingestion (17 vs 11 kg MS ingérée respectivement) ainsi que par la composition de la ration distribuée aux animaux (50% fourrages + 50% concentré vs 100% pâturage, respectivement). Par rapport au système néo-zélandais, les émissions quotidiennes de méthane par animal mesurées dans le système californien sont 1,5 fois plus importantes du fait de la plus grande quantité et qualité d'aliments ingérés et donc digérés dans le rumen. Cependant, la quantité de lait produite par animal avec le système californien est 2,6 fois plus importante. Aussi, au kg de lait produit, la quantité de méthane émise par les animaux du troupeau californien a été estimée 37% plus faible que celle du troupeau néo-zélandais. La même démarche a été appliquée par MCCRABB (2002) en système de production de viande bovine. Il a estimé que l'incorporation de céréales dans la ration pendant 80 jours après la saison de pâturage serait à l'origine d'une diminution de CH₄ par kg de viande estimée de 34 à 54% sur la période de finition. **Estimées sur la base de l'unité de produit, litre de lait ou kg de viande, les émissions de CH₄ sont donc sensiblement diminuées par une intensification du système de production.**

L'encouragement à l'intensification des productions pour réduire la méthanogenèse reste toutefois à discuter pour les raisons suivantes :

1°) L'augmentation de la part de concentré dans la ration des ruminants est un objectif difficile à atteindre puisque les teneurs en concentré sont déjà importantes. De plus, ce type de ration hautement énergétique est considéré comme "à risque" pour la santé de l'animal car souvent associé à des pathologies plus ou moins connues d'ordre digestif, métabolique ou autre (acidose, atteinte hépatique, boiterie, mammite, diarrhées...) (ENEMARK *et al.*, 2002).

2°) L'intensification des productions est en opposition avec la demande de la société qui aspire à une production animale plus "naturelle" et de qualité. L'alimentation à base d'herbe a un impact positif sur la valeur nutritionnelle (MARTIN *et al.*, 2004) et sensorielle (MARTIN *et al.*, 2005) des produits animaux.

3°) Si l'on raisonne de manière plus globale en terme de GES (et pas strictement production de CH₄), les fourrages contribuent à la réduction de la teneur en CO₂ par photosynthèse, les prairies étant considérées comme des puits de carbone importants. Il faut également mentionner la plus faible consommation d'énergie fossile et la plus faible production de CO₂ avec des systèmes extensifs comparés à des systèmes plus intensifs. Ces derniers sont en effet basés sur la consommation de concentrés à base de céréales dont les coûts en énergie et en GES (CO₂ et N₂O), pour la production et le transport, sont élevés.

4°) Enfin, il est important de prendre en compte la demande mondiale accrue en céréales et oléoprotéagineux pour l'alimentation humaine et la production d'énergie renouvelable. A l'avenir, les ruminants devraient d'abord valoriser les surfaces non labourables. Dans le cas contraire, ils seraient encore plus taxés de transformateurs peu efficaces.

Conclusion

Chez le ruminant, la méthanogenèse est un phénomène naturel qui a lieu lors de la digestion microbienne des aliments dans le rumen. La production de méthane est signe de bon fonctionnement du rumen ; il est donc impossible de supprimer totalement sa production. Toutefois, une réduction de la méthanogenèse reste possible. En ce qui concerne les additifs ou les biotechnologies comme moyens de diminuer la méthanogenèse, peu de traitements proposés dans ce document répondent à la triple exigence d'efficacité à long terme, de sécurité pour l'animal et le consommateur, et de coût ; leur application pratique est donc limitée. Les diacides organiques qui sont également des produits présents naturellement dans les plantes consommées par les herbivores pourraient s'avérer intéressants si le problème de leur coût est résolu. En ce qui concerne les leviers d'action au niveau

du système d'élevage, une diminution de la méthanogenèse passe essentiellement par une intensification des productions animales. L'apport de lipides alimentaires riches en acides gras polyinsaturés dans la ration des ruminants semble être une piste prometteuse. Enfin, il faut noter que la plupart de ces mesures ne sont pas compatibles avec les demandes sociétales qui aspirent à davantage de pratiques "naturelles" (extensification, utilisation de pâturages, restriction de l'emploi d'additifs alimentaires) pour une production animale de qualité et respectueuse de l'environnement (entretien du territoire et de la biodiversité...).

Références bibliographiques

- ARGYLE J.L., FORSTER R.J. (1988) : "Effects of ciliate protozoa on rumen bacterial populations", In J.V. Nolan, R.A. Leng and D.I. Demeyer, (Eds), *The Roles of Protozoa and Fungi in Ruminant Digestion*, Penambul Books, Armidale, Australie.
- ARTHUR P.F., ARCHER J.A., JOHNSTON D.J., HERD R.M., RICHARDSON E.C., PARNELL P.F. (2001) : "Genetic and phenotypic variance and covariance components for feed intake, feed efficiency, and other postweaning traits in Angus cattle", *J. Anim. Sci.*, 79, 2805-2811.
- ASANUMA N., IWAMOTO M., HINO T. (1999) : "Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganisms in vitro", *J. Dairy Sci.*, 82, 780-787.
- BALCH W.E., WOLFE R.S. (1979) : "Transport of coenzyme M (2-mercaptoethanesulfonic acids) in *Methanobrevibacter ruminantium*", *J. Bacteriol.*, 137, 264-273.
- BATES J. (2001) : "Economic Evaluation of Emission Reduction of Nitrous Oxides and Methane in Agriculture in the EU", *Final Report ECCP*.
- BEEVER D.E., CAMMELL S.B., SUTTON J.D., SPOONER M.C., HAINES M.J., HARLAND J.I. (1989) : "Effects of concentrate type on energy utilization in lactating dairy cows", In Y. Van der Honing and W.H. Close, (Eds), *Energy Metabolism of farm Animals, EAAP Publ.*, Pudoc, Wageningen, 43,33-66.
- BOGAERT C., GOMEZ L., JOUANY J-P., JEMINET G. (1989) : "Effects of the ionophore antibiotics lasalocid and cationomycin on ruminal fermentation in vitro", *Anim. Feed Sci. Technol.*, 27, 1-15.
- BUSQUET M., CALSAMIGLIA S., FERRET A., CARDOZO P.W., KAMEL C. (2005) : "Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture", *J. Dairy Sci.*, 88, 2508-2516.
- CALLAWAY T.R., MARTIN S.A.(1996) : "Effect of organic acid and monensin treatment on in vitro mixed ruminal microorganisms fermentation of cracked corn" *J. Anim. Sci.*, 74, 1982-1989.
- CARDOZO P.W., CALSAMIGLIA S., FERRET A., KAMEL C. (2004) : "Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture", *J. Anim. Sci.*, 82, 3230-3236.
- CHILLIARD Y., FERLAY A., DOREAU M. (2001) : "Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids", *Livest. Prod. Sci.*, 70, 31-48.
- CZERKAWSKI J.W., BLAXTER K.L., WAINMAN F.W. (1966) : "The metabolism of oleic, linoleic and linolenic acids by sheep with reference to their effects on methane production", *Br. J. Nutr.*, 20, 349-362.
- DEMEYER D.I. (1991) : "Quantitative aspects of microbial metabolism in the rumen and the hindgut", In : Jouany J.P (Ed), *Rumen microbial metabolism and ruminant digestion*, INRA Editions, Paris, 217-237.
- DOHME F., MACHMÜLLER A., WASSERFALLEN A., KREUZER M. (2001) : "Ruminal methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets", *Lett. Appl. Microbiol.*, 32, 47-51.
- ENEMARK J.M.D., JORGENSEN R.J., ENEMARK P.S. (2002) : "Rumen acidosis with special emphasis on diagnostic aspects of subclinical acidosis : a review". *Veterinarija IR Zootehnika*, 42, 16-29.
- FRUMHOLZ P.P., NEWBOLD C.J., WALLACE R.J. (1989) : "Influence of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the fermentation of a basal ration in the rumen simulation technique (rusitec)", *J. Agric. Sci. (Camb.)*, 113, 169-172.
- GARCIA-GONZALEZ R., LOPEZ S., FERNANDEZ M, GONZALEZ J.S. (2006) : "Effects of the addition of some medicinal plants on methane production in a rumen simulating fermenter (rusitec)", In : Soliva C.R., Takahashi J., Kreuzer M., (Eds), *Greenhouse Gases and Animal Agriculture*, Elsevier Science B.V., in press.

- GOOPY J.P., HEGARTY R.S. (2006) : “The persistence of divergent methane production over time in lot fed cattle”, In : Soliva C.R., Takahashi J., Kreuzer M., (Eds), *Greenhouse Gases and Animal Agriculture*, Elsevier Science B.V., in press.
- HEGARTY R.S. (1999) : “Mechanisms for competitively reducing ruminal methanogenesis”, *Austr. J. Agric. Res.*, 50, 1299-1305.
- HEGARTY, R. S. (2001) : “Greenhouse gas emissions from Australian livestock sector. What do we know, what can we do?”, *Australian Greenhouse Office*.
- HEGARTY R.S. (2002) : “Strategies for mitigating methane emissions from livestock – Australian options and opportunities”. In : Takahashi J., Young B.A., (Eds), *Greenhouse Gases and Animal Agriculture*, Elsevier Science B.V., 61-65.
- IKWUEGBU O.A., SUTTON J.D. (1982) : “The effect of varying the amount of linseed oil supplementation on rumen metabolism in sheep”, *Bri. J. Nutr.*, 48, 365-375.
- IPCC (1992) : “Climate change 1992”, In : Houghton, J.T. Callander, B.A. Varney, S.K., (Eds), *The supplementary Report to the Scientific Assessment.*, Cambridge University Press.
- JOBLIN K.N. (1999) : “Ruminal acetogens and their potential to lower ruminant methane emissions”, *Austr. J. Agric. Res.*, 50, 1307-1313.
- JOHNSON D.E., PHETTEPLACE H.W., ULYATT M.J. (2000) : “Variations in the proportion of methane of total greenhouse gas emissions from US and NZ dairy production systems”, *Proceedings of the IInd International Symposium on Methane Mitigation*, Novosibirsk, Russia, 249-254.
- JOHNSON D.E., PHETTEPLACE H.W., SEILD A.F. (2002). “Methane, nitrous oxide and carbon dioxide emissions from ruminant livestock production systems”, In : TAKAHASHI J., YOUNG B.A., (Eds), *Greenhouse Gases and Animal Agriculture*, Elsevier Science B.V., 77-85.
- JOUANY, J.P. (1994) : “Manipulation of microbial activity in the rumen”, *Arch. Anim. Nutr.*, 46,133-153.
- JOUANY J-P., LASSALAS B. (1997) : “Study of the adaptation of the rumen ecosystem to the antimethanogenic effect of monensin measured in vivo”, *Reprod. Nutr. Dev.(suppl.)*, S69-S70.
- JOUANY J-P, LASSALAS B., COULMIER D. (2005) : “Etude in vitro des effets de l’ajout de sérum de luzerne sur les fermentations ruminales”, *Renc. Rech. Ruminants*, 12, 240.
- KAJIKAWA H., VALDEZ C., HILLMAN K., WALLACE R.J., NEWBOLD C.J. (2003) : “Methane oxidation and its coupled electron-sink reactions in ruminal fluid”, *Lett. Appl. Microbiol.*, 36, 354-357.
- KEPPLER F., HAMILTON J.T.G., BRAB M., RÖCKMANN T. (2006). “Methane emissions from terrestrial plants under aerobic conditions”, *Nature*, 439, 187-191.
- KUNG L. JR., SMITH K.A., SMAGALA A.M., ENDRES K.M., BESSETT C.A., RANJIT N.K., YAISSE J. (2003) : “Effects of 9,10 anthraquinone on ruminal fermentation, total-tract digestion, and blood metabolite concentrations in sheep”, *J. Anim. Sci.*, 81,323-328
- LASSEY K.R., ULYATT M.J., MARTIN R.J., WALKER C.F., SHELTON I.D. (1997) : “Methane emissions measured directly from grazing livestock in New Zealand”, *Atmospheric Environment*, 31, 2905-2914.
- LANA R.P., RUSSEL J.B., VAN AMBURG M.E. (1998) : “The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production”, *J. Anim. Sci.*, 76, 2190-2196.
- LEE S. S., HSU J-T., MANTOVANI H. C. , RUSSELL J. B (2002) : « The effect of bovicin hc5, a bacteriocin from streptococcus bovis hc5, on ruminal methane production in vitro”, *FEMS Microbiol. Lett.* 217: 51-55.
- MACHMÜLLER A., OSSOWSKI D.A., KREUZER M. (2000) : “Comparative evaluation of the effects of coconut oil, oilseeds and crystalline fat on methane release, digestion and energy balance in lambs”, *Anim. Feed Sci. Technol.*, 85, 41-60.
- MACHMÜLLER A., SOLIVA C.R., KREUZER M. (2003) : “Methane-suppressing effect of myristic acid in sheep as affected by dietary calcium and forage proportion”, *Bri. J. Nutr.*, 90, 529-540.
- MCCRABB G.J. (2002) : “Nutritional options for abatement of methane emissions from beef and dairy systems in Australia”, In : TAKAHASHI J., YOUNG B.A., (Eds), *Greenhouse Gases and Animal Agriculture*, Elsevier Science B.V., 115-124.
- MCCAUGHEY W.P., WITTENBERG K., CORRIGAN D. (1999) : “Impact of pasture type on methane production by lactating beef cows”, *Can. J. Anim. Sci.*, 79, 221-226.
- MARTIN B., FEDELE V., FERLAY A., GROLIER P., ROCK E., GRUFFAT D., CHILLIARD Y. (2004) : “Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products”, In : Lüscher, A., Jeangros, B., Kessler, W., Huguenin, O., Lobsiger, M., Millar, N., Suter, D., (Eds), *Land use systems in grassland dominated regions*, Zürich, 9, 876-886.
- MARTIN B., VERDIER-METZ I., BUCHIN S., HURTAUD C., COULON J. B. (2005) : “How does the nature of forages and pasture diversity influence the sensory quality of dairy livestock products?”, *Anim. Sci.*, 81, 205-212.

- MARTIN C., ROUEL J., DOREAU M., JOUANY J., CHILLIARD Y. (2006) : “Effet de lipides de Linseed sur la méthanogenèse chez les vaches laitières”, Vth Joint RRI-INRA Gastrointestinal tract Microbiology Symposium, June 2006, Aberdeen, Scotland, UK. Soumis.
- MATHIEU F., JOUANY J-P., SÉNAUD J., BOHATIER J., BERTIN G., MERCIER M. (1996) : “ The effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on fermentations in the rumen of faunated and defaunated sheep ; protozoal and probiotic interactions”, *Reprod. Nutr. Dev.*, 36, 271-287.
- MORVAN B., DORÉ J., RIEU-LESME F., FOUCAT L., FONTY G., GOUET PH. (1994) : “Establishment of hydrogen-utilizing bacteria in the rumen of the newborn lamb”, *Fems Microbiol. Lett.*, 117, 249-256.
- MOSS A., JOUANY JP., NEWBOLD J. (2000) : “Methane production by ruminants : its contribution to global warming”, *Ann. Zootech*, 49, 231-253.
- MUTSVANGWA T., EDWARDS I.E., TOPPS J.H., PATERSON G.F.M. (1992) : “The effects of dietary inclusion of yeast culture (YeaSacc) on patterns of rumen fermentation, food intake and growth of intensive bulls”, *Anim. Prod.*, 55, 35-40.
- NAVAS-CAMACHO A., LAREDO M.A., CUESTA A., ORTEGA O., ROMERO M. (1994) : “Evaluation of tropical trees with high or medium saponin content as dietary alternative to eliminate ciliate protozoa from the rumen”, *Proc. Soc. Nutr. Physiol.*, 3, 204-206.
- NEWBOLD C.J., RODE L.M. (2006) : “Dietary additives to control methanogenesis in the rumen”, In : Soliva C.R., Takahashi J., Kreuzer M., (Eds), *Greenhouse Gases and Animal Agriculture*, Elsevier Science B.V., in press.
- NOLLET L., DEMEYER D.I., VERSTAETE W. (1997a) : “Effect of 2-bromoethanesulfonic acid and *Peptostreptococcus productus* ATCC 35244 addition on stimulation of reductive acetogenesis in the ruminal ecosystem by selective inhibition of methanogenesis”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, 194-200.
- NOLLET L., MBANZAMIHIGO L., DEMEYER D.I., VERSTAETE W. (1997b) : “Effect of the addition of *Peptostreptococcus productus* ATCC 35244 on reductive acetogenesis in the ruminal ecosystem after inhibition of methanogenesis by cell free supernatant of *Lactobacillus plantarum* 80”, *Anim. Feed Sci. Technol.*, 71, 49-66.
- OKINE E.K., MATHISON G.W., HARDIN R.T. (1989) : “Effects of changes in frequency of reticular contractions on fluid and particulate passage rates in cattle”, *J. Anim. Sci.*, 67, 3388-3396.
- OKINE E.K., BASARAB J.A., BARON V., PRICE M.A. (2001) : “Net feed efficiency in young growing cattle : III. Relationship to methane and manure production. Proceedings Can. J. Anim.Sci., conference.
- PINARES-PATIÑO-PATIÑO C., ULYATT M.J., HOLMES C.W., BARRY T.N., LASSEY K.R. (2000) : “Some rumen digestion characteristics and methane emission in sheep”, *Proceedings 15th Symposium Energy Metabolism in Animals*, Elsinore, Denmark, 117-120.
- PINARES-PATIÑO C., BAUMONT R., MARTIN C. (2003) : “Methane emissions by charolais cows grazing a monospecific pasture of timothy at four stages of maturity”, *Can. J. Anim. Sci.*, 83, 769-777.
- PINARES-PATIÑO C., D’HOUR P., MARTIN C., (2006a) : “ Effects of grazing intensity on methane and carbon dioxide production by cattle”, *Agri. Ecosys. Environ.*, sous presse.
- PINARES-PATIÑO C., VLAMING B., CAVANAGH A., MOLANO G., CLARK H. (2006b) : “Persistence of dairy cows in animal-to-animal variation in methane emission”, In : Soliva C.R., Takahashi J., Kreuzer M., (Eds), *Greenhouse Gases and Animal Agriculture*, Elsevier Science B.V., in press.
- RANILLA M.J., MORGAVI D.P., JOUANY J-P. (2004) : “Effect of time after defaunation on methane production in vitro”, *Reprod. Nutr. Develop.*, 44 (Suppl.1), S35.
- SAUVANT D. (1993) : “La production de méthane dans la biosphère : le rôle des animaux d’élevage”, *Courrier de la cellule Environnement*, INRA, 18, 67-70.
- SOLIVA C.R., MEILE L., CIELAK A., KREUZER M., MACHMÜLLER A. (2004) : “ Rumen simulation technique study on the interactions of dietary lauric and myristic acid supplementation in suppressing ruminal methanogenesis”, *Bri. J. Nutr.*, 92, 689-700.
- STEWART C.S., CROSSLEY M.V., GARROW S.H. (1983) : “The effect of avoparcin on laboratory cultures of rumen bacteria”, *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 17, 292-297.
- STOCK P.K., MCCLESKEY C.S. (1964) : “Morphology and physiology of *Methanomonas methanooxidans*”, *J. Bacteriol.*, 88, 1071-1077.
- TAKAHASHI J., CHAUDHRY A.S., BENEKE R.G., YOUNG B.A. (1997) : “Modification of methane emission in sheep by cysteine and a microbial preparation”, *Sci. Total Environ.*, 204, 117-123.
- TAVENDALE M.H., LANE G. A., SCHREURS N.M., FRASER K., MEAGHER L.P. (2005) : “ The effects of condensed tannins from *Dorycnium rectum* on skatole and indole ruminal biogenesis for grazing sheep”, *Austr. J. Agr. Res.*, 56, 1331-1337.

- TEFEREDEGNE B., MCINTOSH F., OSUJI P.O., ODENYO R.J., WALLACE R.J., NEWBOLD C.J. (1999) : "Influence of foliage from different accessions of the sub-tropical leguminous tree, *Sesbania Sesban*, on ruminal protozoa in ethiopian and Scottish sheep", *Anim. Feed Sci. Technol.*, 78, 11-20.
- TUNG R.S., KUNG L., SLYTER L.L. (1992) : "In vitro effects of the thiopeptide A 10255 on ruminal fermentation of soluble carbohydrates", *J. Dairy Sci.*, 76, 1083-1090.
- VALDEZ C., NEWBOLD C.J., HILLMAN K., WALLACE R.J. (1996) : "Evidence for methane oxidation in rumen fluid in vitro", *Ann. Zootech.*, 45, (Suppl.), 351 (Abstr.).
- VAN NEVEL C.J., DEMEYER D.I. (1995) : "Feed additives and other interventions for decreasing methane emissions", In R.J. Wallace and A. Chesson, (Eds), *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding*, VCH, Weinheim, 329-349.
- VAN NEVEL C.J., DEMEYER D.I., COTTYN B.G., HENDERICKX H.K. (1970) : "Effect of sodium sulphide on methane and propionate in the rumen", *Z. Tiererphysiol. Tierernäh. Futtermittel*, 26, 91-100.
- VERMOREL M. (1995a) : "Emissions annuelles de méthane d'origine digestive par les bovins en France. Variations selon le type d'animal et le niveau de production", *INRA Prod. Anim.*, 8, 265-272.
- VERMOREL M. (1995b) : "Productions gazeuses et thermiques résultant des fermentations digestives", In : Jarrige R., Ruckebusch Y., Demarquilly C., Farce M. H., Journet M., (Eds), *Nutrition des ruminants domestiques ingestion et digestion*. INRA Editions, Paris, p 649-670.
- VERMOREL M., JOUANY J-P. (1989) : "Effects of rumen protozoa on energy utilization by wethers of two diets based on ammonia-treated straw supplemented or not with maize", *Asian Austral. J. Anim. Sci.*, 2, 475-476.
- WAGHORN G.C., CLARK D.A. (2006) : "Greenhouse gas mitigation opportunities with immediate application to pastoral grazing for ruminants", In : Soliva C.R., Takahashi J., Kreuzer M., (Eds), *Greenhouse Gases and Animal Agriculture*, Elsevier Science B.V., in press.
- WALLACE R.J., WOOD T.A., ROWE A., PRICE J., YANEZ D.R., WILLIAMS S.P., NEWBOLD C.J. (2006) : "Encapsulated fumaric acid as a means of decreasing ruminal methane emissions", In : Soliva C.R., Takahashi J., Kreuzer M., (Eds), *Greenhouse Gases and Animal Agriculture*, Elsevier Science B.V., in press.
- WEBSTER A.J.F., OSUJI P.O., WHITE F., INGRAM J.F. (1975) : "The influence of food intake on portal blood flow and heat production in the digestive tract of sheep", *Br. J. Nutr.*, 34, 125-139.
- WRIGHT A. D., KENNEDY P., O'NEILL C.J., TOOVEY A.F., POPOVSKI S., REA S.M., PIMM C.L., KLEIN L. (2004) : "Reducing methane emissions in sheep by immunization against rumen methanogens", *Vaccine*, 22, 3976-3985.