

Article de synthèse

Ruminants et environnement : la méthanogenèse

Daniel DEMEYER*, Veerle FIEVEZ

Department of Animal Production, Faculty of Agricultural and Applied Biological Sciences,
Ghent University, Proefhoevestraat 10, 9090 Melle, Belgium

(Reçu le 30 juillet 1999 ; accepté le 11 février 2000)

Abstract — Ruminants and environment: methanogenesis. Methane, the most important greenhouse gas after carbon dioxide, contributes for 16% to the greenhouse effect. Only 30% of total methane emission originates from natural sources, whereas 70% is linked to human activities, including livestock production. Rumen methanogenesis can be incorporated into models of different levels of complexity, based on stoichiometry and kinetics of fermentation and estimation of energy content of nutrients. Nevertheless, recent efforts in estimating ruminant methanogenesis remain subject to important variability, both on the animal and population level. In general, methane production in the digestive tract of production animals is estimated to be responsible for 22% of the anthropogenic sources. Attempts have been made to decrease this contribution, using methane inhibitors such as long chain fatty acids, halogenated methane analogues, antibiotics and biotechnological interventions such as defaunation or reductive acetogenesis. However, none of the proposed methods for methane inhibition is acceptable nor applicable today due to the interaction of inhibitors with different rations or individual animal characteristics and series of interrelated effects associated with consumer scepticism towards certain additives.

methanogenesis / rumen / greenhouse gas / environment

Résumé — Le méthane, deuxième gaz à effet de serre après le dioxyde de carbone, contribue à raison de 16 % à l'effet de serre. L'émission de méthane n'est que pour 30 % originaire de sources naturelles, les 70 % restants sont au compte des activités humaines, dont l'élevage de bétail. La méthanogenèse du rumen peut être incluse dans des modèles à différents niveaux de complexité, basés sur la stœchiométrie et la cinétique des fermentations et sur l'évaluation énergétique des aliments. Mais, les tentatives récentes d'estimation de la méthanogenèse, restent sujettes à une variabilité considérable, aussi bien au niveau de l'animal que global. En général, on estime que la production de méthane dans le tube digestif des animaux d'élevage est responsable de 22 % des sources anthropogènes. Des tentatives pour réduire cette contribution en utilisant des inhibiteurs de la méthanogenèse comme les acides gras à chaîne longue, les analogues halogénés du méthane, les antibiotiques

* Correspondance et tirés à part
Tél. : (32) 9 264 90 00 ; fax (32) 9 264 90 99 ; e-mail : daniel.demeyer@rug.ac.be

et des interventions biotechnologiques comme la défaunation ou l'acétogénèse réductrice ont été entreprises. Mais, une série d'effets secondaires et l'interaction des inhibiteurs avec différentes rations et avec les caractéristiques individuelles de l'animal auxquelles s'ajoutent le scepticisme des consommateurs envers certains additifs fait qu'aucune méthode ne semble applicable ou acceptable en pratique pour le moment.

méthanogénèse / rumen / gaz à effet de serre / environnement

1. INTRODUCTION

Depuis quelques années, le réchauffement progressif de notre planète, provoqué par l'effet de serre, est devenu une réalité aussi bien politique que scientifique [56].

Cet effet est dû à l'accumulation dans l'atmosphère de gaz qui retiennent (absorbent) le rayonnement infrarouge (IR), issu de l'émission de rayons de grandes longueurs d'onde par la surface terrestre. Il s'agit principalement du dioxyde de carbone (CO_2), du méthane (CH_4), des chlorofluorocarbures (CFC) et des oxydes d'azote (NO_x) dont les contributions à l'effet de serre ont été estimées respectivement à 49, 18, 14 et 6 % [50]. Le méthane n'agit pas seulement par absorption du rayonnement IR, il est aussi responsable de la formation photochimique d'autres gaz de serre, comme l'ozone (O_3) troposphérique. En effet, dans les régions à fortes concentrations d'oxydes d'azote (dues à la pollution de l'air), la dégradation de

méthane est accompagnée d'une formation d'ozone troposphérique. Son activité, comparativement au CO_2 , ne reflète pas sa concentration dans l'atmosphère – qui est environ 200 fois plus faible que celle du CO_2 – mais plutôt sa capacité à absorber le rayonnement IR – qui dépasserait de 30 fois celle du CO_2 . Évaluée à partir des analyses de bulles de gaz emprisonnées dans les glaciers polaires, la concentration dans l'air du méthane s'est accrue de 750 ppb il y a 100 ans environ à 1800 ppb actuellement [8]. Les sources sont assez bien connues et leur production semble dépasser le potentiel d'utilisation, ce qui provoque son accumulation dans l'atmosphère (Tab. I).

Cette situation a conduit certains organismes internationaux à inventorier [12] et à contrôler (US Environmental Protection Agency ; [64]) les émissions de CH_4 et d'autres gaz à effet de serre. De par ses caractéristiques, le méthane est un excellent candidat pour faire l'objet d'une surveillance

Tableau I. Sources et dépôts du méthane atmosphérique (Tg ou 10^6 tonnes·an⁻¹) [6].

	Estimation	Extrêmes
Sources		
Naturelles	150	120–300
Anthropogènes	350	225–570
Total	505	400–610
Dépôts		
Élimination atmosphérique	470	420–520
Élimination par le sol	30	15–45
Accumulation atmosphérique	32	28–37

particulière. En effet, sa stabilité est nettement inférieure à celle du CO₂ (durées de vie de 10 vs. plus de 100 ans respectivement [6, 63]). De plus, une réduction de 10 % de la production de méthane serait équivalente à une diminution de 10 % de l'émission de CO₂ [6], malgré une concentration de ce dernier beaucoup plus élevée dans l'atmosphère.

Parmi les sources anthropogènes, le méthane produit essentiellement par le tube digestif des animaux d'élevage représenterait 22 % de la production totale, ou 29 % si on inclut les déchets animaux comme source méthanogène (Tab. II). Exprimé par rapport à la production atmosphérique totale (sources naturelles + anthropogènes), ce chiffre varie en moyenne entre 16 et 20 % selon que l'on inclut ou pas les déchets [16].

Il est clair que ces estimations sont très variables, comme l'illustrent les valeurs extrêmes des tableaux I et II. L'incertitude sur la proportion de méthane formée et désactivée par oxydation dans le sol, de même que celle produite par les élevages et leurs déchets sont autant d'exemples de sources de variations.

Dans ce qui suit, une tentative pour comprendre, contrôler et évaluer la variabilité des productions de méthane émanant du tube digestif animal est développée. Cette tentative est basée sur un modèle stœchio-

métrique et sur la cinétique des fermentations dans le rumen et le gros intestin. Après une discussion sur les fermentations microbiennes du tube digestif et les possibilités de contrôle de la méthanogenèse digestive, la fin de l'article porte sur les récents développements des méthodes d'estimation.

2. LES FERMENTATIONS MICROBIENNES DU TUBE DIGESTIF

2.1. Les méthanogènes

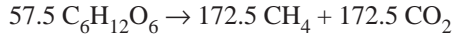
La méthanogenèse biologique est le résultat de l'activité de micro-organismes anaérobies stricts, les *Archaea*, qui utilisent principalement l'acétate, le méthanol, l'hydrogène/CO₂, le formiate et les méthylamines comme substrats. On trouve ces organismes dans deux systèmes avec des taux de renouvellement très différents : le tube digestif et les marais, qui ont des temps de rétention de quelques jours à quelques semaines, respectivement. Les systèmes avec rétention longue permettent la transformation complète des substrats en CO₂ et CH₄, ceux avec une rétention courte engendrent la formation de produits intermédiaires qui s'accumulent dans les milieux de fermentation. La relation stœchiométrique générale des fermentations dans ces deux systèmes peut

Tableau II. Sources anthropogènes du méthane atmosphérique (Tg ou 10⁶ tonnes·an⁻¹) [6].

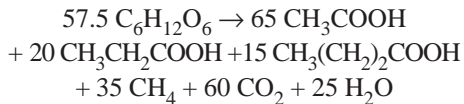
Sources	Estimation	Extrêmes
Mines de charbon, gaz naturel, industries pétrolières	100	70–120
Rizières	60	20–150
Élevage	80	65–100
Déchets d'élevage	25	10–20
Épuration des eaux usées	25	20–25
Remplissages de terres	30	20–70
Combustion de biomasse	40	20–80
Total	360	400–610

être représentée comme suit [25] :

- *Complète* (marais, rizières, épurations anaérobies)



- *Incomplète* (tube digestif)



Les méthanogènes se distinguent des bactéries par :

- une génétique très différente ;
- la présence dans la paroi cellulaire de lipides liés par des liaisons éther et non par des liaisons ester ;
- la présence d'une chaîne d'enzymes et de co-facteurs uniques, assurant la méthanogenèse comme dépôt final d'hydrogène gazeux libéré dans des consortiums de réducteurs de protons. La chaîne assure la réduction du CO_2 en stades successifs et dépend pour son activité de co-enzymes liés à des oligo-éléments comme le Ni, le Fe, le Mo et le W.

2.2. Les fermentations dans le rumen

Le processus de transformation des parois végétales pour la production de lait et de viande, est initié par la population microbienne du rumen. En effet, la lignocellulose des parois végétales, inaccessible aux enzymes endogènes des mammifères, est dégradée par les micro-organismes du rumen par hydrolyse et fermentation.

Les produits terminaux qui en résultent, constituent la base nutritionnelle de l'animal :

- Ainsi, les acides acétique, propionique et butyrique, absorbés à travers la paroi du rumen sont une source majeure d'énergie. Dans les systèmes occidentaux de production, ces acides assurent généralement environ 70 % de l'apport énergétique du ruminant.

- Les protéines microbiennes, formées grâce à l'énergie libérée sous forme d'ATP par les processus de fermentation, quittant les pré-estomacs et entrant dans l'intestin grêle deviennent une source protéique capitale pour l'animal. Dans les systèmes de production occidentaux, les protéines microbiennes assurent généralement 60 à 70 % de l'apport protéique du ruminant.

2.2.1. La répartition de la matière organique dans le rumen

À un premier niveau de complexité, le système de la digestion ruminale est schématisé dans un modèle simplifié de répartition de la MO alimentaire digérée dans le rumen (Fig. 1).

Il est important de souligner que :

- la population microbienne formée de bactéries, de protozoaires, de champignons et de bactériophages ne fonctionne pas de façon additive sur le substrat constitué par les aliments ingérés, mais comme un complexe intégré et agissant en synergie. Ce complexe est actif dans différents compartiments (phases liquides, petites particules, grandes particules, paroi du rumen, ...) ;
- les membres du complexe n'utilisent pas seulement les produits terminaux issus de la fermentation mais influencent

MO alimentaire (et endogène) digérée = MOD

MOD = MOF + MOM

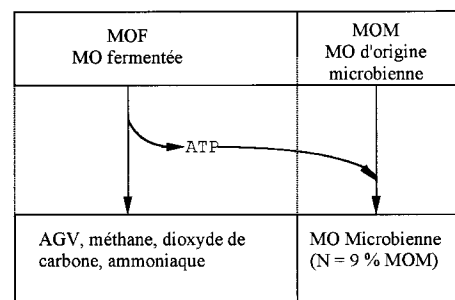


Figure 1. Répartition de la MO digérée dans le rumen.

Tableau III. Dégradation (%) de la MS de paille in sacco dans le rumen d'agneaux gnotobiotiques en présence ou en absence de méthanogènes [23].

Période d'incubation (h)	Animal 1 méthanogènes		Animal 2 méthanogènes		Animal 3 méthanogènes		Animal 4 méthanogènes	
	-	+	-	+	-	+	-	+
24	14,3	24,3	18,3	23,3	21,9	22,0	18,5	24,2
48	20,5	30,0	23,9	29,5	21,6	27,4	23,0	29,0
72	20,8	31,9	25,6	31,6	23,3	30,3	24,8	31,1

mutuellement les voies métaboliques de dégradation aboutissant à un changement dans les produits terminaux des membres et améliorant ainsi les gains d'ATP et l'utilisation du substrat.

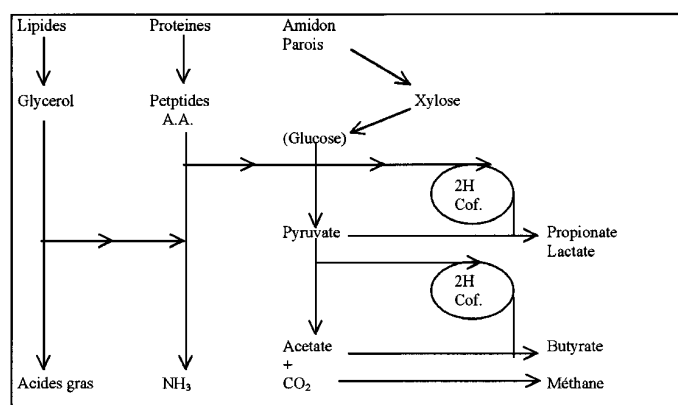
L'exemple le plus significatif de cette interaction est sans doute le transfert d'hydrogène inter-espèces (« interspecies hydrogen transfer »). En effet, la fermentation du glucose, libéré par hydrolyse de la cellulose et des hémicelluloses des parois, nécessitant la régénération des co-facteurs sous forme oxydée par transfert d'électrons à d'autres accepteurs que l'oxygène. Pour des raisons thermodynamiques, l'accumulation d'hydrogène gazeux ne permet pas la formation des co-facteurs oxydés. La présence de bactéries méthanogènes va alors assurer l'élimination continue de l'hydrogène gazeux suivant la réaction $\text{CO}_2 + 4 \text{H}_2$

→ CH_4 . La baisse de concentration en hydrogène qui suit, permet la réoxydation des co-facteurs ce qui assure la poursuite de l'oxydation du substrat, stimule à la fois sa dégradation et favorise la croissance des bactéries fibrolytiques. Les effets stimulants sur la dégradation du substrat de ce transfert d'hydrogène vers les méthanogènes a été démontré in vitro avec des bactéries cellulolytiques [67], des champignons [3] et des protozoaires [57]. Le tableau III montre les résultats récents d'une expérience in vivo obtenus avec des agneaux gnotobiotiques [23].

2.2.2. La stœchiométrie des fermentations

À un deuxième niveau de complexité, les relations entre les quantités de produits terminaux formés par fermentation sont schématisées dans un modèle stœchiométrique (Fig. 2) [66].

Figure 2. Modèle stœchiométrique de la production et de l'utilisation de « l'hydrogène métabolique » ou d'électrons pendant la fermentation ruminale [15].



Ce modèle permet de quantifier la récupération d'hydrogène métabolique (protons) à partir des produits formés. Le taux de récupération ou « bilan d'hydrogène » est calculé à partir des quantités d'AGV et de méthane produites [15]. Les résultats obtenus *in vivo* et *in vitro* montrent que ce taux varie entre 80 et 100 %.

En admettant une récupération moyenne de 90 %, cette relation permet de relier les productions molaires de méthane à celles d'AGV :

$M = 0,450 (A) - 0,275 (P) + 0,400 (B)$ [15] avec M = méthane ; A = acétate ; P = propionate ; B = butyrate.

Cette équation met en évidence une relation inverse entre les productions de méthane et de propionate et permet de caractériser les fermentations en fonction du profil fermentaire. Dans ces profils, les quantités molaires d'AGV et de méthane peuvent être exprimées par kg de matière organique fermentée (MOF). À partir de résultats principalement obtenus *in vitro*, il a été montré

que de nombreux facteurs influencent le profil fermentaire et donc la méthanogenèse dans le rumen (Tab. IV).

Parmi ces facteurs (Tab. IV), citons :

– le type de substrat : moins de méthane est produit lorsque le substrat est d'origine protéique ;

– la vitesse de fermentation reflétée par la vitesse d'infusion de substrat glucidique dans les fermenteurs (Tab. IV) montre qu'une vitesse plus élevée diminue la production de méthane au bénéfice du propionate ;

– la ration de base de l'animal :

Une infusion de glucides facilement fermentescibles dans le rumen diminue la production de méthane au profit du propionate. Ce changement est sans doute dû à une vitesse de fermentation accélérée, associée à une population microbienne modifiée. Une fermentation augmentée diminue le pH du rumen, ce qui se traduit par un effet négatif sur la méthanogenèse et les protozoaires.

Tableau IV. Effets de différents facteurs sur le profil fermentaire du rumen [15].

Facteurs	Profil fermentaire (mol·kg ⁻¹ MOF)				BH ⁽¹⁾ (%)
	Méthane	Acétate	Propionate	Butyrate	
Substrat					
<i>Type</i>					
Glucides	2,59	6,54	3,89	0,92	97
Protéines	1,31	3,25	2,12	0,95	78 ⁽²⁾
<i>quantité·h⁻¹</i>					
389 mg·h ⁻¹	3,27	7,72	2,65	0,99	92
648 mg·h ⁻¹	1,54	5,31	3,70	1,11	86
Ration					
Foin + concentré	1,54	5,31	3,70	1,11	92
Foin + sucrose	0,37	3,64	5,25	0,80	90
Mélasse	2,22	1,79	0,74	4,69	87
Animal					
no. 1	3,46	7,59	2,90	0,80	100
no. 2	2,59	6,54	3,89	0,92	97
no. 3	2,10	6,42	4,20	0,74	91

⁽¹⁾ BH = bilan d'hydrogène.

⁽²⁾ Calculé en tenant compte du valérate et de l'isovalérate formés [15].

Cette situation simule une ingestion importante d'une ration riche en amidon.

Un régime à base de mélasse ou d'amidon ingéré en quantité correspondant à un apport limité de glucides facilement fermentescibles, se traduira par une concentration de protozoaires plus élevée et une production plus intense de butyrate, produit terminal du métabolisme des protozoaires.

– L'animal :

Le tableau IV montre que la méthanogenèse varie entre 2,10 et 3,45 moles de méthane par kg de MOF, lorsque le contenu du rumen est prélevé avant le repas, sur trois moutons alimentés avec une même ration à base de foin. Ces profils différents sont sans doute liés à des populations microbiennes ruminales différentes, dont la nature pourrait être déterminée par la cinétique de salivation et, donc, de vidange du rumen. Le pH et l'activité des protozoaires sont également deux paramètres non seulement déterminés par la nature et le niveau de l'alimentation mais aussi par le contrôle, via l'animal, de la cinétique et du volume du contenu du rumen. Teather et al. [53] ont montré que la population de protozoaires peut varier énormément entre animaux nourries avec la même ration. Ces auteurs trouvaient des taux de protéines issus de protozoaires variant de 0,01 à 5,73 mg·ml⁻¹ dans le rumen de 22 vaches en lactation, nourries avec la même ration distribuée ad libitum. Dans des essais d'alimentation en feedlot,

13 % des animaux peuvent être défaunés spontanément et 15 % peuvent avoir des taux de protozoaires égaux à 1,59 × 10⁵ par g de contenu du rumen [55]. La présence de protozoaires est associée à des taux de méthanogenèse importants et un renouvellement élevé des protéines microbiennes dans le rumen, mais ils assurent aussi une limitation des productions d'AGV et donc de chute du pH, en raison du stockage temporaire de glucides solubles et d'amidon [40].

Il n'est donc pas surprenant que les tentatives récentes d'estimation de la méthanogenèse par l'animal soient sujettes à une variabilité considérable (Tab. V), principalement déterminée par des différences de composition et de quantité d'aliment ingérée et des caractéristiques particulières de l'animal.

2.2.3. La cinétique de fermentation et de passage de la MO

La quantité de MO fermentée dans le rumen est le résultat du bilan des vitesses de passage et de fermentation (dégradation) des particules de MO alimentaire. En appliquant des modèles d'équilibre dynamique de contenu du rumen maintenu à volume constant, on peut calculer la quantité de MOF en fonction de la MO ingérée, comme suit [45]

$$F = a + b \frac{c}{(c + k)}$$

Tableau V. Estimations récentes d'émissions de méthane par les bovins.

Référence	Production de méthane (litre par jour et par animal) ⁽¹⁾				
	[63]	[27]	[46]	[52]	[58]
Vache laitière					
0 kg·j ⁻¹	205				
20	550	381	493	202	250 à 550
30	600				
40	700		473		

⁽¹⁾ Les quantités de méthane ont été converties en litre, en admettant que 1 mole de méthane = 898,7 kJ = 22,4 l = 16 g.

Tableau VI. Effets du taux de dilution sur le profil fermentaire et l'efficacité de la synthèse bactérienne en culture continue de micro-organismes du rumen [60].

D (h ⁻¹)	Profil fermentaire (mol·kg ⁻¹ MOF)				BH ⁽¹⁾ (%)	ESM ⁽²⁾ (g N·kg ⁻¹ MOF)
	Méthane	Acétate	Propionate	Butyrate		
0,032	4,20	9,20	1,36	0,79	94	24,0
0,060	3,70	10,20	1,73	0,22	84	30,8
0,101	2,78	8,78	2,86	0,30	86	38,2

⁽¹⁾ BH = bilan d'hydrogène.

⁽²⁾ ESM = efficacité de la synthèse microbienne.

Avec

F = proportion de la MO alimentaire présente dans le rumen effectivement fermentée ;

a = proportion de cette MO alimentaire rapidement dégradable (solubilisée) ;

b = proportion de cette MO alimentaire potentiellement dégradable ;

c = vitesse spécifique (taux) de dégradation (fermentation) ;

k = taux de passage des particules.

À volume de contenu du rumen constant, les valeurs de k augmentent avec le niveau d'ingestion. En général, on considère que les bactéries quittent le rumen avec les petites particules, ce qui implique que k reflète autant le taux de passage des particules que le taux de dilution et la vitesse spécifique (μ) de croissance microbienne dans le modèle de culture homogène continue. Un accroissement de k , et donc de μ , définit la vitesse de croissance et de fermentation synchronisée. On peut estimer qu'un accroissement du taux de passage déplacera le profil fermentaire vers le propionate aux dépens du méthane et s'accompagnera d'une augmentation de l'efficacité de la croissance microbienne (Tab. VI) [60].

Un taux de passage de particules accru, associé à une vitesse de fermentation accélérée, correspond à une situation où les animaux ingèrent des quantités importantes d'aliments concentrés (amidon). Les chutes

et les fluctuations de pH caractéristiques de ces rations détermineront l'importance relative de la méthanogenèse dans la fermentation, ainsi que celle des protozoaires dans la population microbienne. Ces fluctuations sont le résultat d'une interaction micro-organismes-animal-aliment, dans laquelle le facteur animal se manifeste par exemple dans le volume et la cinétique de vidange du rumen. De tels facteurs peuvent expliquer des résultats apparemment contradictoires sur la défaunation comme l'illustre le tableau VII [14].

2.3. La fermentation dans le gros intestin des ruminants

Avec des rations peu digestibles ou des rations à faible digestibilité ruminale, des quantités importantes de MO peuvent être fermentées dans le gros intestin, particulièrement chez les ovins. Ce site est constitué du côlon et du caecum, dont les contenus contiennent des bactéries et des AGV semblables à ceux présents dans le rumen. Toutefois, on ne trouve pas de protozoaires et les processus fermentaires diffèrent notablement de ceux du rumen. En effet, une partie substantielle de l'hydrogène est fixée dans ces milieux sous forme d'acétate (voie de l'acétogenèse réductrice) suivant la réaction [49] :



Tableau VII. Effets de la défaunation sur le volume, la cinétique et l'activité cellulolytique du contenu du rumen [14].

	Contenu du rumen			Dégradabilité paille In sacco 24 h (%)
	Volume liquide (l)	Taux de renouvellement		
		Liquide (h ⁻¹)	Particules (h ⁻¹)	
1983				
Défauné	8,1	0,085	0,072	10,4*
Réfauné	10,2	0,076	0,048	22,5
1986				
Défauné	9,4*	0,075	0,022*	32,6
Réfauné	7,4	0,073	0,030	32,1

* Différence significative ($p < 0,05$).

Tableau VIII. Effets de l'addition d'hydrogène gazeux sur des produits de fermentation du foin dans les contenus du rumen et du gros intestin chez les bovins [11].

	AGV totaux (moles)	Profils fermentaires (mmol·mol ⁻¹ AGV) ⁽¹⁾			
		Méthane	Acétate	Propionate	Butyrate
Rumen					
- H ₂	1 000	256	619	189	148
+ H ₂	980	497*	594*	202*	141
Caecum + côlon					
- H ₂	1 000	119	632	268	76
+ H ₂	1 110*	360*	694*	305*	88*

⁽¹⁾ Les valeurs sont exprimées par moles d'AGV (acides gras volatils) formés en absence d'hydrogène.

* Différence significative ($p < 0,05$) entre les données obtenues en absence ou en présence d'hydrogène gazeux.

L'incidence de cette réaction sur les fermentations dans le gros intestin est illustrée par les effets différents d'une addition d'hydrogène gazeux à des incubations de contenus du rumen et du gros intestin (Tab. VIII).

La présence d'hydrogène gazeux dans le contenu du rumen induit un accroissement de la production de méthane et de propionate, et s'accompagne d'une baisse d'acétate. Dans le gros intestin, un accroissement de tous les produits terminaux, y compris de l'acétate et du butyrate est observé. La méthanogenèse et l'acétogenèse réductrice ne s'excluent pas mutuellement, contrairement

au rumen; leur importance relative dans le gros intestin varie considérablement comme le montre la variabilité des productions de méthane (Tab. IX).

L'une des conséquences de la fixation de l'hydrogène par l'acétogenèse réductrice est le manque d'équilibre dans les bilans d'hydrogène, dont les valeurs sont très basses et toujours inférieures à 80 % (Tab. IX).

La contribution à la digestion post-ruminale de la matière organique d'une ration riche en fibres alimentaires peut atteindre 45 %. Elle semble être plus importante avec les ovins qu'avec les bovins [13]. L'importance

Tableau IX. Profils fermentaires obtenus à partir de contenus du rumen et du gros intestin de bovins en utilisant le foin comme substrat [11].

Expériences	Profils fermentaires (mmol·mol ⁻¹ AGV)				BH ⁽¹⁾ (%)
	Méthane	Acétate	Propionate	Butyrate	
Animaux					
1. Rumen	257	631	280	89	92
Caecum	186	724	247	29	72
2. Rumen	240	604	286	110	91
Caecum	164	671	303	25	74
3. Rumen	217	675	268	56	83
Caecum	118	803	236	61	57
4. Rumen	268	658	279	64	95
Caecum	162	719	230	50	65
5. Rumen	292	676	248	76	95
Caecum	60	608	295	97	54
Moyennes (CV)⁽²⁾					
Rumen	255 (11)	649 (5)	272 (5)	79 (26)	92 (6)
Caecum	138 (36)	685 (7)	262 (13)	52 (56)	64 (14)

⁽¹⁾ BH = bilan d'hydrogène.

⁽²⁾ CV = coefficient de variation.

relative de l'acétogénèse réductrice dans le gros intestin varie énormément, mais les facteurs déterminant cette variabilité ne sont pas connus. Des études sur des lapins suggèrent que le jeûne, l'âge et la génétique interviennent [47]. Chez le mouton, la méthanogénèse post-ruminale peut atteindre 23 % de la production totale [4]. La différence des valeurs obtenues à partir de la stœchiométrie de la fermentation dans le rumen et les mesures de méthanogénèse en chambre respiratoire [39] pourrait être liée à l'importance du gros intestin dans la méthanogénèse, bien que des déviations de la stœchiométrie puissent également être observées dans le cas de rations riches en pectine [48].

3. INHIBITION DE LA MÉTHANOGENÈSE

Depuis les années 60, les pertes d'énergie alimentaire ont stimulé des recherches inten-

sives sur l'inhibition de la méthanogénèse dans le rumen. Des produits accepteurs d'électrons entrant en compétition avec la formation de méthane ont été dans un premier temps étudiés, puis les études ont concerné les inhibiteurs non compétitifs.

3.1. Additifs nutritionnels

3.1.1. Les acides gras à chaîne longue

On s'est aperçu très vite que les acides gras à chaîne longue, libérés par la lipolyse dans le rumen, sont des inhibiteurs non compétitifs de la méthanogénèse, malgré leur hydrogénation [9]. L'adsorption des acides gras sur les membranes cellulaires des microbes cause une inhibition partielle du passage des nutriments essentiels et semble responsable de l'effet toxique. L'inhibition de la méthanogénèse est aussi liée à la nature des lipides : les acides gras libres sont plus efficaces que les triglycérides [59].

Il est à noter que l'huile de poisson inhibe la production de méthane mais ne diminue pas l'ingestion ni la dégradabilité des fibres [10, 21].

3.1.2. Les analogues halogénés du méthane

Ces inhibiteurs non compétitifs sont les plus puissants [62]. On estime que l'action de ces composés est due à une interaction avec les co-enzymes corrinoïdes intervenant dans le processus de la méthanogenèse. Ces co-enzymes analogues interviennent aussi dans la production de propionate.

L'acide 2-bromoéthylsulfonique (BES), un analogue du co-enzyme M, est un inhibiteur assez spécifique. Cet analogue provoque une inhibition sélective de la méthanogenèse en interférant avec la réductase du methyl-co-enzyme M des bactéries méthanogènes [2]. Il est surprenant que la population microbienne du rumen s'adapte à cet inhibiteur puissant (Tab. X) [24]. Récemment, l'usage combiné du bromochlorométhane et de l' α -cyclodextrine a donné des résultats positifs et persistants [37].

Tableau X. Effet de l'acide 2-bromoéthylsulfonique (BES) sur les concentrations d'hydrogène et de méthane dans les gaz du rumen d'un mouton [24].

Période	% CH ₄	% H ₂
Contrôle ($n = 9$) ⁽¹⁾	34,8 ± 2,9	0
BES ⁽²⁾		
jour 1	0,4	31,8
2 et 3	0,8	28,1
4	25,5	0,2
5	18,6	0,2
6	18,6	0,1
7	25,1	0,1

⁽¹⁾ n = nombre de jours de mesures.

⁽²⁾ Addition de 2 g de BES dans le rumen d'un mouton fistulé (± 70 kg), une infusion continue ($2 \text{ g} \cdot \text{j}^{-1}$ dans 250 ml d'eau). Le jour 4, l'animal refusait de manger et l'infusion était arrêtée. Les jours 5, 6 et 7; 0,5, 1,0 et 2,0 g de BES étaient introduits dans le rumen.

3.1.3. Les antibiotiques

Les antibiotiques forment un autre groupe d'inhibiteurs à action moins spécifique. Il s'agit principalement des ionophores, avec inhibition indirecte de la méthanogenèse par inhibition de la production d'hydrogène [62].

Le Monensin est l'ionophore le plus connu ; il provoque une diminution significative de la production du méthane dans le rumen [7, 30, 31, 54]. Il agit en inhibant les bactéries responsables de la production d'hydrogène et d'acide formique, deux intermédiaires dans la production du méthane. Si le consensus est général dans la littérature concernant l'inhibition de la méthanogenèse par le Monensin, les publications sur l'adaptation des micro-organismes méthanogènes à l'ionophore sont contradictoires. En effet, chez des bovins nourris avec des rations extrêmement riches en concentrés (90 %), une reprise totale de la production de méthane après une à deux semaines d'administration du Monensin a été rapportée [5, 51]. Au contraire, des expériences réalisées sur moutons avec des rations moins riches en concentrés (50–70 %) qui n'ont pas confirmé cet effet d'adaptation dans le rumen [29, 35, 36]. En effet, ce n'est qu'après l'arrêt de l'administration du Monensin, qu'une récupération progressive de la méthanogenèse ruminale a été rapportée. Comme les expériences, dans lesquelles l'adaptation des micro-organismes méthanogènes au Monensin a été observée, étaient établies dans des chambres respiratoires, l'hypothèse d'une compensation de la méthanogenèse ruminale inhibée par une production élevée dans le gros intestin a été suggérée [35]. Cette hypothèse a été écartée par Mbanzamihigo et al. [36] qui ont montré un effet inhibiteur persistant du Monensin sur la méthanogenèse caecale (Tab. XI). Dans ces types d'expériences, il reste des différences dans la nature des rations (riches vs. plus pauvres en concentrés), le niveau d'alimentation (ad libitum vs. couvrant les besoins d'entretien) et les types d'animaux utilisés (bovins vs. moutons). Il est probable que la nature des

Tableau XI. Effet d'une addition de Monensin dans le rumen d'un mouton, sur la méthanogenèse ruminale in vivo et in vitro après incubation des contenus du caecum ($n = 4$)⁽¹⁾ [36].

	CH ₄ (l·6 h ⁻¹ du rumen)	CH ₄ caecum (mmoles·mol ⁻¹ AGV)
Période I (Contrôle)	ca. 10*	150 ± 65*
Période II (Monensin ⁽²⁾) jours 7–35	ca. 5	58 ± 13

⁽¹⁾ Nombre d'incubations.

⁽²⁾ 60 mg·j⁻¹ durant 6j, suivi de 2 × 25 mg·j⁻¹.

* Différence significative entre les deux périodes ($p < 0.05$).

rations joue un rôle important. Johnson et al. [26] ont récemment rapporté une adaptation des micro-organismes au Monensin lorsque les animaux étaient nourris avec une ration riche en grains tandis que l'adaptation n'était pas claire lorsqu'ils étaient nourris avec du foin de brome.

Récemment, un laboratoire chinois a rapporté des résultats sur un nouveau ionophore, l'Hainanmycin, comparable à l'effet du Monensin dans le rumen : une augmentation de la proportion de propionate aux dépens de l'acétate, une diminution de la production des protéines microbiennes compensée par l'augmentation du taux de protéines « by-pass », une diminution de l'ingestion de la MS sans effets évidents sur la digestion de la MO ou des fibres dans le rumen ou dans le tube digestif total [38]. Reste à examiner plus en détail l'effet d'adaptation des microbes ruminants à l'administration de cet ionophore.

L'emploi d'antibiotiques est remis en question d'une manière très persistante en Europe. Mais, il apparaît que l'utilisation des ionophores est un outil puissant pour diminuer la méthanogenèse. Son action est d'ailleurs multiple car il est devenu l'additif classique qui inhibe la dégradation des protéines dans le rumen aussi bien que la méthanogenèse. Son utilisation réduit aussi l'ingestion, ce qui représente un deuxième facteur diminuant la méthanogenèse. L'effet global revient à une amélioration d'environ 5 % de l'indice de consommation, mais des

effets au niveau du tissu animal ne peuvent pas être exclus car environ 50 % de la dose administrée serait soumise au cycle entero-hépatique [40].

3.2. Interventions biotechnologiques

3.2.1. Défaunation du rumen

On sait que les bactéries méthanogènes se fixent sur des ciliés entodiniomorphes et que cette association physique entre les deux membres de l'écosystème microbien serait responsable de 9 à 25 % de la méthanogenèse du rumen [41].

La défaunation du rumen de bœuf est presque toujours accompagnée d'une diminution considérable de la méthanogenèse (20–50 %) [33, 65]. Si on ajoute à cet effet une moindre dégradation des protéines et une diminution du « turnover » bactérien, le résultat global pourrait être en défaveur de la méthanogenèse mais aussi fonction de la ration et de l'interaction de l'animal avec la ration et la défaunation alimentaire ou autre [28].

3.2.2. L'acétogenèse réductrice

La nécessité de développer des alternatives pour les antibiotiques a intensifié les recherches sur les probiotiques. L'introduction de bactéries actives et impliquées dans l'acétogenèse réductrice, capables d'entrer en compétition avec les bactéries

méthanogènes, est particulièrement intéressante [67]. Ces bactéries sont présentes dans le rumen [20], mais leur activité hydrogénotrophe dans la réaction $2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O}$ ne s'exprime pas.

Ces organismes préfèrent le métabolisme hétérotrophe dans le rumen, en compétition avec les autres bactéries acidogènes [44]. Leur affinité très réduite pour l'hydrogène en comparaison avec les méthanogènes serait le facteur majeur responsable de cette situation [34]. Récemment néanmoins, l'introduction d'une bactérie acétogène (*P. productus* ATCC 35244) avec un inhibiteur du méthane (2-BES) et en présence d'hydrogène gazeux a déclenché l'acétogenèse réductrice in vitro dans des incubations avec des contenus du rumen (Tab. XII) [42].

Dans un essai similaire, in vivo cette fois, et en utilisant un extrait de *L. Plantarum* comme inhibiteur de la méthanogenèse, la stimulation de l'acétogenèse réductrice n'a pas été obtenue [43].

3.3. Perspectives d'utilisation des inhibiteurs de la méthanogenèse

Malgré une recherche intensive sur l'inhibition de la méthanogenèse, aucune méthode

ne semble acceptable ou applicable en pratique. En effet, les inhibiteurs de la méthanogenèse engendrent parfois une série d'effets secondaires comme :

- une moindre dégradation des fibres (e.g. défaunation [17], certains analogues halogénés du méthane [61], la plupart des acides gras à chaîne longue [68]) ;

- l'adaptation des micro-organismes à l'action d'inhibition (e.g. le Monensin) ;

- une possibilité d'accumulation des résidus dans la viande, le lait ou l'environnement et les doutes des consommateurs concernant la sécurité de ces produits et de ces résidus (e.g. les antibiotiques).

Malgré l'inhibition puissante de certains additifs, les effets secondaires ou le scepticisme des consommateurs (e.g. envers des produits animaux, les antibiotiques) empêchent une application pratique. Les interventions biotechnologiques sont difficiles à appliquer en pratique (défaunation) [18] ou restent toujours très spéculatives (acétogenèse réductrice) [22].

Une nouvelle évolution, utilisant un vaccin immusant les ruminants contre leurs bactéries méthanogènes pourrait ouvrir de nouvelles voies [1].

Tableau XII. Effet de l'addition de BES et/ou *P. Productus* ATCC 35244 sur la production d'acétate en présence de contenu du rumen in vitro [42].

Gaz	BES (mM)	<i>P. productus</i>	Acetate (mmoles)
100 % CO ₂	0,00	–	3,91
		+	4,10
	0,01	–	2,64
		+	3,14
		–	2,65
0,03	–	2,65	
	+	3,31*	
80 % H ₂	0,00	–	4,86
		+	5,22
20 % CO ₂	0,01	–	3,76
		+	5,50
	0,03	–	3,79
		+	5,94*

* Différence significative due à l'addition de *P. Productus*.

4. L'ESTIMATION DE LA MÉTHANOGENÈSE DES RUMINANTS

En raison de l'importance écologique des productions de méthane et de leur impact sur l'utilisation énergétique des rations, des tentatives d'estimation de la méthanogenèse par les ruminants ont été élaborées dans divers pays. Il est évident qu'en dehors de la quantité et de la nature de l'aliment, nombre de facteurs vont déterminer la méthanogenèse.

4.1. Estimation au niveau de l'animal

Les meilleures estimations sont obtenues avec des régressions de productions de méthane mesurées sur des quantités de nutriments ingérées. Ce type d'estimation est appliqué depuis longtemps en alimentation animale, car le méthane constitue une perte d'énergie considérable qui détermine la teneur en énergie métabolisable d'une ration. Le tableau XIII montre deux exemples parmi les plus précis.

Les coefficients de détermination ne dépassent pas 0,70 avec un écart type résiduel d'environ 12 % de la valeur moyenne. Ces valeurs suggèrent une précision limitée, les valeurs réelles se situent entre les limites de confiance des estimations

($p < 0,05$), c'est-à-dire entre ± 25 % des valeurs estimées. Ce manque de précision est illustré par la régression des valeurs calculées sur celles mesurées, utilisant d'autres données [4].

L'application d'un modèle mathématique affiné à partir de celui de Dijkstra et al. [19], améliore la précision [4] (Fig. 3).

Pour que les modèles mécanistes de la digestion dans le rumen et le gros intestin assurent une meilleure précision, il faudra sans doute les affiner avec des caractéristiques animales. En effet, le métabolisme du rumen, et plus particulièrement la méthanogenèse, est non seulement déterminé par le niveau et la nature de l'alimentation, mais aussi par l'interaction de l'animal pris individuellement avec son alimentation. Celle-ci peut être reflétée par exemple par la cinétique de passage du rumen, la salivation et (donc ?) le pH, la population et le nombre d'espèces de protozoaires dans le rumen.

4.2. Estimation de la production globale de méthane

On peut se demander néanmoins si cette meilleure précision au niveau animal améliore la qualité de l'estimation de la production globale de méthane issue des ruminants. En effet, comme cela a été souligné

Tableau XIII. Précision de l'estimation des productions de méthane chez des vaches Holstein en lactation.

Moe & Tyrrell (1979), cités dans [64]

$$\text{Méthane (Mcal.j}^{-1}\text{)} = 0,814 + 0,122 * \text{extractif non azoté (kg.j}^{-1}\text{)} + 0,415 * \text{hémicellulose (kg.j}^{-1}\text{)} + 0,633 * \text{cellulose (kg.j}^{-1}\text{)}$$

$R^2 = 0,52$; ETR⁽¹⁾ en % de la moyenne = 14 %

Kirchgessner et al. [32]

$$\text{Méthane (g.j}^{-1}\text{)} = 63 + 79 * \text{fibres brutes (kg.j}^{-1}\text{)} + 10 * \text{extractif non azoté (kg.j}^{-1}\text{)} + 26 * \text{protéines brutes (kg.j}^{-1}\text{)} - 212 * \text{extrait éthéré (kg.j}^{-1}\text{)}$$

$R^2 = 0,69$; ETR⁽¹⁾ en % de la moyenne = 12 %

⁽¹⁾ ETR = Écart type résiduel.

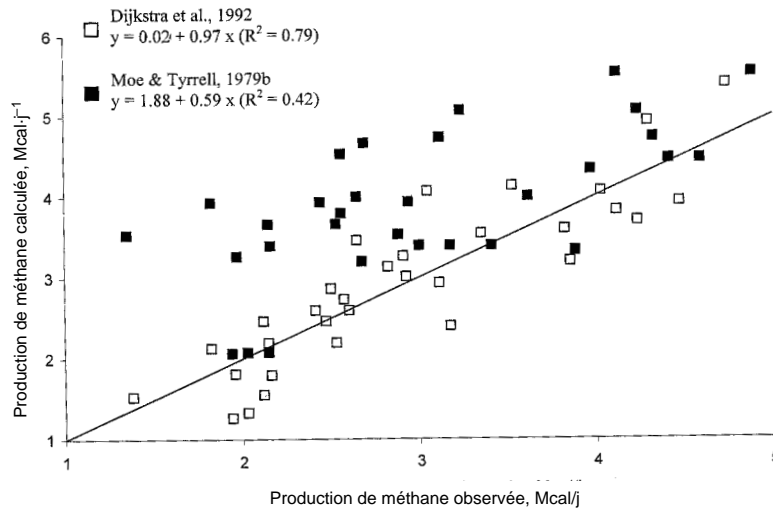


Figure 3. Relation entre la méthanogenèse calculée selon Moe et Tyrrell (1979) [64] ou le modèle mathématique affiné à partir de celui de Dijkstra et al. [19], et corrigée pour l'ingestion des pectines et la méthanogenèse mesurée (adapté d'après [4]).

Tableau XIV. Grandes étapes dans l'estimation de la méthanogenèse d'origine bovine [12].

I. DOCUMENTATION

Compter la population totale par voie aérienne (survol de secteurs sélectionnés par grillage) et contrôler sur place (durant 1 an),

II. CARACTÉRISATION

Distinguer les systèmes commerciaux, pastoraux et urbains // Identifier la composition des troupeaux en contactant les bergers (nomades) ;
 Éviter la méfiance // Préciser clairement l'information demandée // Limiter le temps des conversations ;
 Identifier et contrôler l'histoire des animaux femelles.

III. ESTIMATION DE L'ÉMISSION PAR ESPÈCE

Calculer l'ingestion journalière de base // du poids vivant, estimé par les dimensions des animaux // du gain moyen quotidien, estimé par des combinaisons âge/poids // des besoins d'entretien élevés à cause des distances à parcourir (jusqu'à + 37 % de l'énergie nette pour l'entretien) // la qualité des pâturages.

IV. ESTIMATION DE L'ÉMISSION TOTALE

$IV = \Sigma (II).(III)$

par Johnson et Ward [27], le manque d'information précise sur les caractéristiques des populations bovines, telles que la répartition des sexes, des poids, la mortalité et la productivité, constituent le principal point

critique de l'estimation de la méthanogenèse. Les mêmes auteurs confirment qu'environ 80 % de la population bovine dans le monde se trouve dans des pays où la méthanogenèse n'a pas été mesurée. Les

estimations sont alors faites à partir de données statistiques générales des annuaires FAO qui ont souvent de multiples origines non contrôlées et pour lesquelles les nombres d'animaux ne correspondent pas toujours aux productions bovines fournis par d'autres sources. La méthodologie pour l'évaluation d'une population bovine et ses caractéristiques est lourde et une précision acceptable est difficile à obtenir (Tab. XIV) [12].

Il semble que pour atteindre des estimations acceptables de la méthanogénèse par les ruminants dans ces pays, on pourrait se contenter de considérer la méthanogénèse par animal comme étant égale à un pourcentage fixe de l'énergie ingérée par groupe d'animaux : 6 % pour les bovins avec une exception pour les animaux alimentés en feedlot (3,5 %) élevés avec des régimes très riches en aliment concentré ; 6,5 % pour les vaches européennes en lactation ; 7 % pour les bovins européens en croissance (sauf pour les veaux au cours des 2 ou 3 mois qui suivent le sevrage) ; 7,5 % pour les buffles et 7 % pour les chameaux [27].

RÉFÉRENCES

- [1] Baker S.K., Method for improving utilization of nutrients by ruminant or ruminant like animals, International Patent (1995) No. WO9511041.
- [2] Balch W.E., Wolfe R.S., Transport of coenzyme M (2-mercaptopethanesulfonic acid) in *Methanobrevibacterium ruminantium*, J. Bacteriol. 137 (1979) 264–273.
- [3] Bauchop T., Mountfort D.O., Cellulose fermentation by a rumen anaerobic fungus in both the absence and the presence of rumen methanogens, Appl. Environ. Microbiol. 42 (1981) 1103–1110.
- [4] Benchaar C., Rivest J., Pomar C., Chiquette J., Prediction of methane production from dairy cows using existing mechanistic models and regression equations, J. Anim. Sci. 76 (1998) 617–627.
- [5] Carmean B.R., Johnson D.E., Persistence of monensin-induced changes in methane emissions and ruminal protozoa numbers in cattle, J. Anim. Sci. 65 (Suppl. 1) (1990) S517.
- [6] Chynoweth D.P., Environmental impact of methanogenesis, Environ. Monit. Assess. 42 (1996) 3–18.
- [7] Crutzen P., The role of methane in atmospheric chemistry and climate, in: Von Engelhardt W., Leonhard-Marek S., Breves G., Giesecke D. (Eds.), Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1995, pp. 291–316.
- [8] Crutzen P.J., Aselmann I., Seiler W., Methane production by domestic animals, wild ruminants and other herbivorous fauna and humans, Tellus 38B (1986) 271–281.
- [9] Czerkawski J.W., Blaxter K.L., Wainman F.W., The metabolism of oleic, linoleic and linolenic acids by sheep with reference to their effects on methane production, Br. J. Nutr. 20 (1966) 349–362.
- [10] Danneels M., Fievez V., Demeyer D., Effect van (n-3)-visolievetzuren op ruwvezelverteerbaarheid en fermentatiepatroon in de pensmaag van het schaap, Proceedings van de 24^e Studiedag Nederlandstalige Voedingsonderzoekers, RUG, Gand, Belgique, 1999, pp. 44–45.
- [11] De Graeve K., Demeyer D., Rumen and hindgut fermentation: differences for possible exploitation, Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 53 (1988) 1805 – 1809.
- [12] De Jode A., Assessing national livestock populations for the productions of methane emission inventories, Environ. Monit. Assess. 38 (1995) 217–229.
- [13] Demeyer D., Rumen microbes and the digestion of plant cell walls, Agric. Environ. 6 (1981) 295–337.
- [14] Demeyer D.I., Effect of defaunation on rumen fibre digestion and digesta kinetics, in: Nolan J.V., Leng R.E., Demeyer D.I. (Eds.), The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion, Penambul Books, Armidale, 1989, pp. 171–180.
- [15] Demeyer D.I., Quantitative aspects of microbial metabolism in the rumen and hindgut, in: Jouany J.P. (Ed.), Rumen microbial metabolism and ruminant digestion, INRA Editions, Paris, 1991, pp. 217–237.
- [16] Demeyer D.I., Sustainable agriculture: biotechnology and the quality of animal production, OECD Documents (1994) 57–58.
- [17] De Smet S., Effects of defaunation on site, nature and extent of digestion in sheep, Thèse, Université de Gand, Belgique, 1993, 165 p.
- [18] De Smet S., Demeyer D.I., Van Nevel C., Effect of defaunation and hay:concentrate ration on fermentation, fibre digestion and passage in the rumen of sheep, Anim. Feed Sci. Technol. 37 (1992) 333–344.
- [19] Dijkstra J., Neal H.D., Beever D.E., France J., Simulation of nutrient digestion, absorption and outflow in the rumen: model description, J. Nutr. 122 (1992) 2239–2256.

- [20] Doré J., Rieu-Lesme F., Fonty G., Gouet P., Preliminary study of non-methanogenic hydrogenotrophic microflora in the rumen of newborn lambs, *Ann. Zootech.* 41 (1992) 82.
- [21] Doreau M., Chilliard Y., Effects of ruminal or post-ruminal fish oil supplementation on intake and digestion in dairy cows, *Reprod. Nutr. Dev.* 37 (1997) 113–124.
- [22] Fievez V., Piattoni F., Mbanzamihiho L., Demeyer D., Reductive acetogenesis in the hindgut and attempts to its induction in the rumen – a review, *J. Appl. Anim. Res.* 16 (1999) 1–22.
- [23] Fonty G., Williams A.G., Bonnemoy F., Morvan B., Withers S.E., Gouet P., Effect of *Methanobrevibacter* sp. MF1 inoculation on glycoside hydrolase and polysaccharide depolymerase activities, wheat straw degradation and volatile fatty acid concentrations in the rumen of gnotobiotically-reared lambs, *Anaerobe* 3 (1997) 383–389.
- [24] Immig I., Demeyer D., Fiedler D., Van Nevel C., Mbanzamihiho L., Attempts to induce reductive acetogenesis into a sheep rumen, *Arch. Anim. Nutr.* 49 (1996) 363–370.
- [25] Jensen B.B., Methanogenesis in monogastric animals, *Environ. Monit. Assess.* 42 (1996) 99–112.
- [26] Johnson D.E., Aboomar J.S., Saa C.F., Carmean B.R., Persistence of methane suppression by propionate enhancers in cattle diets, *Proceedings of the 13th Symposium on Energy Metabolism of Farm Animals, Working Paper 68, Mojàcar, Spain, 1994, p. 4.*
- [27] Johnson D.E., Ward G.M., Estimates of animal methane emissions, *Environ. Monit. Assess.* 42 (1996) 133–141.
- [28] Jouany J.P., Demeyer D.I., Grain J., Effects of defaunating the rumen, *Anim. Feed Sci. Technol.* 21 (1988) 229–266.
- [29] Jouany J.P., Lassalas B., Study of the adaptation of the rumen ecosystem to the anti-methanogenic effect of monensin measured in vivo, *Reprod. Nutr. Dev. (Suppl.)* (1997) S69–S70.
- [30] Jouany J.P., Sénaud J., Utilisation du monensin dans la ration des ruminants. II. Effets sur les fermentations et la population microbienne du rumen, *Ann. Zootech.* 27 (1978) 61–74.
- [31] Joyner A.E., Brown, Jr.L.J., Fogg T.J., Rossi R.T., Effect of monensin on growth, feed efficiency and energy metabolism of lambs, *J. Anim. Sci.* 48 (1979) 1065–1069.
- [32] Kirchgessner M., Windisch W., Müller H.L., Nutritional factors for the quantification of methane production, in: von Engelhardt W., Leonhard-Marek S., Breves G., Giesecke D. (Eds.), *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction*, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1995, pp. 333–352.
- [33] Kreuzer M., Kirchgessner M., Müller H.L., Effect of defaunation on the loss of energy in wethers fed different quantities of cellulose and normal or steamflaked maize starch, *Anim. Feed Sci. Technol.* 16 (1986) 233–241.
- [34] Le Van T.D., Robinson J.A., Ralph J., Greening R.C., Smolenski W.J., Leedle J.A.Z., Schaefer D.M., Assessment of reductive acetogenesis with indigenous ruminal bacterium populations and *Acetivomaculum ruminis*, *Appl. Environ. Microbiol.* 64 (1998) 3429–3436.
- [35] Mbanzamihiho L., Van Nevel C.J., Demeyer D.I., Essai sur l'adaptation de la fermentation ruminale au monensin, *Reprod. Nutr. Dev.* 35 (1995) 353–365.
- [36] Mbanzamihiho L., Van Nevel C.J., Demeyer D.I., Lasting effects of monensin on rumen and caecal fermentation in sheep fed a high grain diet, *Anim. Feed Sci. Technol.* 62 (1996) 215–228.
- [37] McCrabb G.J., Berger K.T., Magner T., May C., Hunter A., Inhibiting methane production in Brahman cattle by dietary supplementation with a novel compound and the effects on growth, *Aust. J. Agric. Res.* 48 (1997) 323–329.
- [38] Mingqiang R., Zanming S., Ruqian Z., Tianshui L., Jie C., Effects of novel polyether ionophore hainanmycin on nutrient digestion, metabolism and ruminal characteristics of goats, *J. Anim. Feed Sci.* 7 (1998) 21–28.
- [39] Moss A.R., Givens D.I., Garnsworthy P.C., The effect of supplementing grass silage with barley on digestibility, in sacco degradability, rumen fermentation and methane production in sheep at two levels of intake, *Anim. Feed Sci. Technol.* 55 (1995) 9–33.
- [40] Nagaraja T.G., Towne G., Beharka A.A., Moderation of ruminal fermentation by ciliated protozoa in cattle fed a high-grain diet, *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (1992) 2410–2414.
- [41] Newbold C.J., Lassalas B., Jouany J.P., The importance of methanogens associated with ciliate protozoa in ruminal methane production in vitro, *Lett. Appl. Microbiol.* 21 (1995) 230–234.
- [42] Nollet L., Demeyer D., Verstraete W., 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 (1997) 194–200.
- [43] Nollet L., Mbanzamihiho L., Demeyer D., Verstraete W., 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 (1997) 49–66.
- [44] Nollet L., Verstraete W., Gastro-enteric methane versus sulphate and volatile fatty acid production, *Environ. Monit. Assess.* 42 (1996) 113–132.

- [45] Ørskov M.J.M., Mc Donnal I., The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage, *J. Agric. Sci.* 92 (1979) 499–503.
- [46] Pelchen A., Peters K.J., Holter J.B., Prediction of methane emissions from lactating dairy cows, *Arch. Tierz.* 41 (1998) 553–563.
- [47] Piattoni F., Demeyer D.I., Maertens L., In vitro study of the age-dependent caecal fermentation pattern and methanogenesis in young rabbits, *Reprod. Nutr. Dev.* 36 (1996) 253–261.
- [48] Pol A., Demeyer D., Fermentation of methanol in the sheep rumen, *Appl. Environ. Microbiol.* 54 (1988) 832–834.
- [49] Prins R.A., Lankhorst A., Synthesis of acetate from CO₂ in the cecum of some rodents, *FEMS Microbiol. Letters* 1 (1977) 255–258.
- [50] Rhode H., A comparison of the contribution of various gases to the greenhouse effect, *Science* 249 (1990) 1217.
- [51] Rimpler W.V., Johnson D.E., Bates D.B., The effect of high dietary cation concentration on methanogenesis by steers fed diets with and without ionophores, *J. Anim. Sci.* 62 (1986) 1737–1741.
- [52] Singh G.P., Effect of greenhouse gases on climate change and Indian ruminant livestock, *Curr. Sci.* 72 (1997) 441–446.
- [53] Teather R.M., Mahadevan S., Erfle J.D., Sauer F.D., Negative correlation between protozoal and bacterial levels in rumen samples and its relation to the determination of dietary effects on the rumen microbial population, *Appl. Environ. Microbiol.* 47 (1984) 566–570.
- [54] Thornton J.H., Owens F.N., Monensin supplementation and in vivo methane production by steers, *J. Anim. Sci.* 52 (1981) 628–634.
- [55] Towne G., Nagaraja T.G., Brandt R.T., Kemp K.E., Dynamics of ruminal ciliated protozoa in feedlot cattle, *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (1990) 3174–3178.
- [56] UNEP, The impact of climate change, UNEP/GEMF Environmental Library, 10, 1993.
- [57] Ushida K., Newbold J., Jouany J.P., Interspecies hydrogen transfer between the rumen ciliate *Polyplastron multivesiculatum* and *Methanosarcina barkeri*, *J. Gen. Appl. Microbiol.* 43 (1997) 129–131.
- [58] Van der Honing Y., van Vuuren A.M., ten Cate R.H., Measurements of methane release by productive dairy cows on various rations and evaluation of factors involved, in: International workshop methane and nitrous oxide: methods in national emission inventory and options for control, Amersfoort, The Netherlands, 3–5 February 1993.
- [59] Van Nevel C., Modification of rumen fermentation by the use of additives, in: Jouany J.P. (Ed.), *Rumen microbial metabolism and ruminant digestion*, INRA Editions, Paris, 1991, pp. 263–280.
- [60] Van Nevel C., Demeyer D.I., Stoichiometry of carbohydrate fermentation and microbial growth efficiency in a continuous culture of mixed rumen bacteria, *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 7 (1979) 111–120.
- [61] Van Nevel C., Demeyer D.I., Feed additives and other interventions for decreasing methane emissions, in: Wallace R.J., Chesson A. (Eds.), *Biotechnology in animal feeds and animal feeding*, VCM, Weinheim, 1995, pp. 329–349.
- [62] Van Nevel C., Demeyer D.I., Control of rumen methanogenesis, *Environ. Monit. Assess.* 42 (1996) 73–97.
- [63] Vermorel M., Émissions 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 (1995) 265–272.
- [64] Wilkerson V.A., Casper D.P., Mertens D.R., The prediction of methane production of holstein cows by several equations, *J. Dairy Sci.* 78 (1995) 2402–2414.
- [65] Williams A.G., Coleman G.S., *The rumen protozoa*, 1st ed., Springer-Verlag, New York, 1992.
- [66] Wolin M.J., A theoretical rumen fermentation balance, *J. Dairy Sci.* 40 (1960) 1452–1456.
- [67] Wolin M.J., Miller T.L., Microbe – microbe interactions, in: Hobson P.M. (Ed.), *The rumen microbial system*, Elsevier Applied Science, London, 1988, pp. 343–359.
- [68] Zinn R.A., Influence on level and source of dietary fat on its comparative feeding value in finishing diets for feedlot steers, *J. Anim. Sci.* 67 (1989) 1038–1049.