

Effet de l'huile de tournesol sur l'émission de méthane entérique chez la vache laitière

F.Z. LAABOURI¹, A. GUEROUALI, H. OUMANE

(Reçu le 21/01/2015; Accepté le 08/04/2015)

Résumé

L'objectif de la présente étude est l'évaluation de l'effet de l'huile de tournesol sur l'émission de méthane entérique chez la vache laitière. La fermentation dans le tube digestif des ruminants contribue par environ 18% à la production mondiale de ce puissant gaz à effet de serre. L'étude a porté sur la mesure de la production de méthane avant et après l'ajout de l'huile de tournesol à la ration de cinq vaches Holstein. La ration de base est composée de 4 Kg d'aliment concentré et de 3 Kg de foin de luzerne. Après deux semaines d'adaptation au régime alimentaire, la production de méthane a été mesurée. Ensuite, 200 ml de l'huile de tournesol ont été ajoutés à la même ration de base et une deuxième mesure de méthane a été effectuée après deux semaines d'adaptation. Afin d'évaluer l'influence du cycle nyctéméral sur la méthanogénèse, cinq mesures d'émissions de méthane ont été effectuées durant une période de 24 h sur les mêmes animaux. La quantité journalière du méthane produit par les vaches a été estimée à environ 185 l/j. La production de méthane par les vaches a baissé de 7,5 l/h à 4,1 l/h durant un intervalle de 24 h entre les repas, ce qui représente une diminution de 45,2 %, puis a remonté après le deuxième repas pour atteindre 7,1 l/h, elle n'a pas été affectée par le cycle nyctéméral. Le méthane est en majorité émis en éructation (89 %) et le reste est éliminé avec les gaz respiratoires (11%). L'effet de l'huile de tournesol sur l'émission de méthane a été léger mais significatif ($p < 5\%$) avec une réduction de 8,1 %. Le coût abordable de cet additif fait de lui un moyen prometteur pour réduire les émissions du méthane entérique dans l'atmosphère.

Mots clés : Effet de serre, Fermentation, Huile de tournesol, Méthane, Vache laitière.

Abstract

The objective of this study is to evaluate the effect of sunflower oil on enteric methane emissions in dairy cows. Fermentation in the digestive tract of ruminants contributes about 18% of world production of this potent greenhouse gas. The study focused on measuring methane production before and after the addition of sunflower oil to the ration of five Holstein cows. The basal ration was composed of 4 kg of feed concentrate and 3 kg of alfalfa hay. After two weeks of adaptation to diet, methane production was measured. Then, 200 ml of sunflower oil was added to the same basal ration and a second methane measurement was made after two weeks of adaptation. To assess the influence of the circadian cycle on methane production, five measurements of methane emissions were conducted over a period of 24 hours on the same animals. The daily amount of methane produced by cows was estimated to average 185 liters/day. Methane production by cows has decreased from 7.5 l/h to 4.1 l/h during an interval of 24 hours between meals, which represents a decrease of 45.2 %, and then increased again after the second meal to reach 7.1 l/h; it was not affected by the circadian cycle but by feeding time. Methane was predominantly emitted by eructation (89 %) and the remainder is removed with the respiratory gas (11%). The effect of sunflower oil on methane emission was small but significant ($p < 5\%$) with a reduction by 8.1 %. The affordable cost of this additive makes it a promising component to reduce emissions of enteric methane in the atmosphere.

Keywords: Greenhouse effect, Fermentation, Sunflower oil, Methane, Dairy Cattle.

INTRODUCTION

Le méthane (CH_4) entérique chez les bovins résulte de la dégradation anaérobie de la biomasse végétale ingérée par les microorganismes présents dans le tube digestif. Ce gaz représente à la fois une perte énergétique pour l'animal et un gaz à effet de serre très puissant par son pouvoir radiatif élevé (25 fois supérieur à celui du dioxyde de carbone) (Benchaar et Greathead, 2011). L'élévation de la concentration atmosphérique des gaz à effet de serre est devenue un sujet d'actualité. En effet, les dégâts du réchauffement global observés avec la fonte des glaciers, la montée du niveau des océans, les perturbations climatiques sont spectaculaires et l'Homme ne peut plus rester passif face à cette situation menaçante et catastrophique.

La présente étude vise à estimer les émissions de méthane entérique par les bovins et à tester *in vivo*, l'effet de l'addition de l'huile de tournesol sur la réduction de méthane chez cette espèce.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Animaux: Lors de la phase expérimentale, qui s'est déroulée au sein du laboratoire de Métabolisme Énergétique de l'Unité de Physiologie Animale et Thérapeutique de l'IAV Hassan II, 5 vaches de race Holstein ont été utilisées. Les vaches, vides et tarées, ont été préalablement soumises à un examen clinique complet. À l'aide d'un ruban zootechnique, le poids des animaux a été estimé en se basant sur la mesure du tour de poitrine (TP). Une note de l'état corporel (BCS) a été attribuée à chaque vache (Tableau 1).

¹ Laboratoire de Métabolisme Énergétique, Unité de Physiologie Animale et Thérapeutique, Institut agronomique et Vétérinaire Hassan II, Maroc

Alimentation: Durant l'expérimentation, une ration alimentaire composée de 3 Kg de foin de luzerne et 4 Kg de concentré a été distribuée pour chaque animal, tandis que l'eau est restée à volonté. L'alimentation a été distribuée une fois par jour, vers 8 heures du matin, avec un contrôle du niveau d'ingestion par la mesure du refus. Les apports en matière sèche et en matière brute de la ration alimentaire sont présentés dans le tableau 2.

Additif alimentaire: Durant la présente étude, l'huile de tournesol riche en acides gras polyinsaturés a été testée pour évaluer son effet sur la réduction de la production de méthane chez les bovins. En effet, 200 ml d'huile de tournesol ont été ajoutés à la ration de base et malaxés avec le concentré.

Protocole expérimental: L'expérimentation s'est déroulée en 2 phases:

- **1^{ère} période:** Adaptation à la ration alimentaire et au port du masque facial pendant une semaine, suivie d'une semaine de mesure du méthane produit.
- **2^{ème} période:** L'ajout de l'huile de tournesol à la ration de base pendant 3 semaines: deux semaines d'adaptation et une semaine de mesure du méthane produit.

Dispositif expérimental: La production de méthane a été mesurée par calorimétrie indirecte à circuit ouvert avec le port d'un masque respiratoire sur la face de l'animal pendant une période de 2 heures après la prise alimentaire matinale. Pour la collecte des gaz, une pompe aspiratrice a été adaptée au système, elle permet la circulation des gaz dans les tuyauteries à un débit ajusté manuellement (151,5 litres /min), en réglant le taux de ventilation par le moyen d'une vanne. Les gaz aspirés passent d'abord à travers une enceinte de stockage. Une deuxième pompe branchée au système prélève des échantillons d'air expiré, qui après une déshumidification, sont renvoyés à l'analyseur

de méthane qui est préalablement calibré. Le système comprend aussi un thermocouple permettant la mesure des températures humide et sèche des gaz collectés, et un manomètre à eau permettant la mesure de la pression des gaz circulant à l'intérieur du système. Le calibrage du système consiste en l'injection de l'azote dans l'analyseur de méthane, permettant ainsi l'évacuation des molécules de méthane de la cellule d'analyse, et ensuite l'injection des gaz contenant le méthane à une concentration connue.

Mesure de la production de méthane: Pour étudier sa cinétique de production journalière, le méthane a été mesuré cinq fois pendant une durée de 24 heures, avec des intervalles réguliers de 6 heures. Les mesures de la production de méthane se sont déroulées régulièrement durant une période de deux heures après la fin du repas à l'aide d'un masque recouvrant la cavité nasale et buccale. La concentration de méthane contenue dans les gaz expirés a été déterminée à l'aide d'un enregistreur graphique connecté à un analyseur de méthane à rayonnements infrarouges. L'analyseur du méthane utilisé donne des valeurs instantanées des concentrations de méthane émises par l'animal exprimées en ppm, ensuite multipliées par le débit de l'air corrigé aux conditions standards. Les valeurs du méthane émis par les animaux pendant 2 heures ont été extrapolées sur 24 heures et exprimées en litre/j, en litre/kg de poids métabolique ensuite en litre/kg de matière sèche ingérée. Trois essais ont été réalisés pour chaque animal durant toutes les périodes.

Analyse statistique: Pour évaluer l'effet de l'addition de l'huile de tournesol sur la production de méthane chez les animaux utilisés, les résultats obtenus ont été soumis à une analyse statistique par comparaison des moyennes en utilisant le test T de Student. L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel statistique SPSS avec un seuil de signification de 5%.

Tableau 1: Caractéristiques des animaux utilisés dans l'expérimentation

Vache	Age (ans)	Sexe	Poids (Kg)	Poids métabolique (Kg 0,75)	État physiologique	BCS*	Parité
A	5,0	Femelle	399	89,27	Vide et tarie	3	Multipare
B	4,0	Femelle	459	99,16	Vide et tarie	3,5	Multipare
C	4,5	Femelle	325	76,54	Vide et tarie	2,5	Multipare
D	4,0	Femelle	427	93,93	Vide et tarie	3	Multipare
E	4,0	Femelle	331	77,60	Vide et tarie	2,5	Multipare
Moyennes				87,30			
Ecart-type				9,97			

*Body Condition Scoring

Tableau 2: Apport en matière brute et en matière sèche de la ration

Aliment	Teneur en Matière Brute (Kg)	Pourcentage en Matière Sèche (%)	Teneur en Matière Sèche (Kg)
Foin de luzerne	3	87,75	2,63
Concentré	4	87,00	3,48
Total	7		6,11

RÉSULTATS

Cinétique de production journalière de méthane: La figure 1 illustre l'évolution de la production de méthane chez les vaches de l'expérimentation au cours des 24 heures.

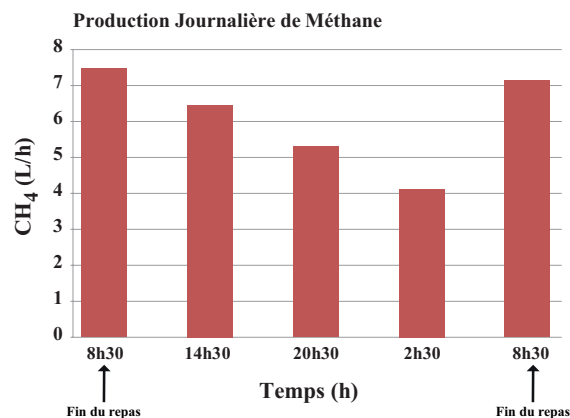


Figure 1: Production de méthane pendant 24 heures (L/h)

Cette figure a montré une élévation des émissions à la fin des repas, puis une régression progressive (45%) jusqu'à la prise alimentaire suivante pour rebondir à nouveau.

Production de méthane durant la première période (période de contrôle): Sur les tracés de la production du méthane chez les 5 vaches, on a noté un nombre moyen de 33 éructations par heure. Le méthane est en majorité émis pendant les périodes d'éructations (89 %) et le reste est éliminé avec les gaz respiratoires (11 %). Les quantités de méthane produites lors de l'éructation et la respiration ont été calculées en l/h puis extrapolés sur 24 heures et exprimées en litre/j ensuite en litre/kg de poids métabolique et en litre/kg de matière sèche ingérée pour chaque animal.

D'après ces résultats, une valeur maximale de production de méthane de 213,7 l/j a été enregistrée chez la vache «C». Notons que cette vache a un poids de 325 kg. La vache «B» qui pèse 459 kg, a la production de méthane la plus basse, soit 171,4 l/j.

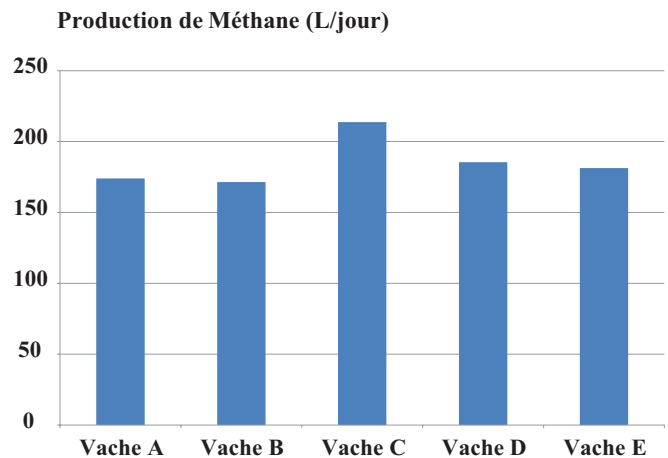


Figure 2: Comparaison de la production journalière du méthane des 5 vaches

Production de méthane après l'ajout de l'huile de tournesol: 200 ml (3,3 %) de l'huile de tournesol ont été ajoutés à la ration de base pour chaque vache quotidiennement et pendant deux semaines et nous avons mesuré la production du méthane avec la même technique que la première période. Les tracés de la production de méthane chez les 5 vaches montrent que l'ajout de l'huile de tournesol a donné une réduction de 8,1 % en comparaison avec la quantité produite durant la période de contrôle. L'ajout de l'huile de tournesol n'a pas affecté la fréquence des éructations, 34 éructations par heure. Les valeurs enregistrées en (ppm) ont été converties en l/h puis extrapolées sur 24 heures et exprimées en litre/j, en litre/kg de poids métabolique ensuite en litre/kg de matière sèche ingérée. Le tableau 4 présente les résultats obtenus.

Tableau 3: la production du méthane des 5 vaches sans additif alimentaire

	Poids (kg)	L/h	L/j	Litre/kg poids métabolique	Litre/kg de MS
Vache A	399	7,24	173,95	1,94	28,46
Vache B	459	7,14	171,38	1,72	28,04
Vache C	325	8,90	213,70	2,79	34,97
Vache D	427	7,72	185,44	1,97	30,35
Vache E	331	7,55	181,30	2,33	29,67
Moyenne		7,71	185,15	2,15	30,29
Écart type		0,70	16,91	0,41	2,77

Tableau 4: Production de méthane des 5 vaches après l'ajout de l'huile de tournesol à l'aliment

	Poids (kg)	L/h	L/j	Litre/kg de poids métabolique	Litre/kg de MS
Vache A	399	6,6	158,59	1,77	25,95
Vache B	459	6,65	159,73	1,61	26,14
Vache C	325	7,63	183,16	2,39	29,97
Vache D	427	7,43	178,32	1,89	29,18
Vache E	331	7,04	168,98	2,17	27,65
Moyenne		7,07	169,75	1,96	27,77
Écart type		0,45	10,37	0,31	1,78

Les résultats du pourcentage de réduction de la production de méthane après l'ajout de l'huile de tournesol pour chaque vache sont indiqués dans le tableau 5.

Tableau 5: Pourcentage de réduction de la production du méthane après l'ajout de l'huile de tournesol

	Réduction (%)
Vache A	-8,83
Vache B	-6,79
Vache C	-14,29
Vache D	-3,83
Vache E	-6,79
Moyenne des réductions	-8,10
Écart-type des réductions	-3,88

L'animal «C» qui avait la plus grande valeur de production de méthane lors des mesures effectuées en première période a bien répondu à l'ajout de l'huile de tournesol en réduisant sa production de méthane de 14,29 %. La vache «D» quant à elle a eu la plus faible réponse en ne réduisant sa production de méthane que de 3,83%.

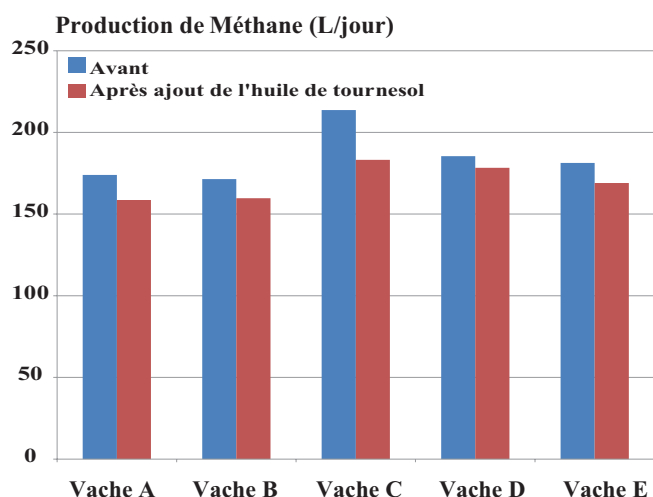


Figure 3: Comparaison de la production de méthane avant et après l'incorporation de l'huile de tournesol chez les 5 vaches

L'analyse statistique des résultats avec un seuil de signification de 5% a montré que l'addition de l'huile de tournesol a un effet significatif sur la production de méthane chez les 5 vaches.

DISCUSSION

Cinétique de production journalière de méthane:

Les variations de la production journalière de méthane observées durant cette étude sont comparables à celles rapportées par Aguerre *et al.* (2011). Parallèlement, les données présentées par Sun *et al.* (2008) ont suggéré que la variation journalière en émissions de CH₄ a été associée plus à l'activité alimentaire qu'aux variations circadiennes. En effet, une augmentation de la production de méthane a été observée juste après le repas du matin (vers 6 h) et du soir (vers 18 h). Le pic postprandial de la production de méthane obtenu durant cette étude peut être expliqué par le fait que les bactéries responsables de

la méthanogénèse prennent quelques heures pour fixer l'hydrogène et élaborer le méthane qui est finalement éliminé par éructation.

La production de méthane par la vache laitière dépend de plusieurs facteurs dont l'âge, l'alimentation, l'état physiologique, le type ou le niveau de production. Nous avons essayé dans cette étude de travailler sur un lot de vaches, le plus homogène possible, pour estimer correctement leurs émissions de méthane. En effet, mis à part leurs poids différents, les vaches sont taries, multipares et ayant à peu près le même âge. Cependant, le poids n'a pas montré d'effet sur la production de méthane puisque la vache B au poids le plus élevé (459 kg) a émis la quantité la plus basse de méthane, et la vache C au poids le plus bas (325 kg) a émis la plus haute quantité de méthane.

Plusieurs études ont été réalisées pour déceler la corrélation entre la production laitière et les émissions de méthane chez la vache laitière. Vermorel *et al.* (1995) ont décrit que des vaches laitières aux productions de 20, 30 et 40 kg/j de lait émettent respectivement 550, 600, et 700 l/j de méthane, alors que les vaches taries n'en émettent que 205 l/j. Ce dernier résultat ne s'éloigne pas beaucoup des mesures obtenues durant notre travail (185 l/j).

Sauvant *et al.* (2012) ont rapporté que l'apport d'aliment concentré influence de façon non linéaire la production de CH₄: elle augmente jusqu'à 30-40% d'apport de concentré dans le régime, mais au-delà, un accroissement du concentré réduit la production de CH₄. Dans notre étude, la proportion du concentré dans la matière sèche ingérée par les vaches dépassait la moitié, ce qui expliquerait les émissions de méthane relativement réduites. D'autres facteurs influencent également la variation des émissions de méthane entérique des bovins, tels que la capacité à valoriser une ration (Nkrumah *et al.*, 2006; Hegarty *et al.*, 2007) et les genres et le nombre de protozoaires du rumen (Teather *et al.*, 1984). Les genres Polyplastron ou Epidinium n'étant pas présents chez certains individus alors qu'ils se développent abondamment chez d'autres (Jouany *et al.*, 2002). Boadi et Wittenberg (2002) ont suggéré aussi que cette différence pouvait être attribuée aux caractéristiques anatomiques de l'appareil digestif.

Les voies de libération du méthane ont été très peu étudiées. D'après le travail que nous avons réalisé, 89 % du méthane produit est émis sous forme d'éructations et seulement 11% est éliminées avec les gaz respiratoires. Cela est semblable aux résultats obtenus par Murray *et al.* (1976) qui signalent que les voies de libération sont: l'éructation (83 %), la respiration (16%) et l'anus (1%). Ils ont aussi montré que 89 % du CH₄ produit dans le gros intestin est absorbée par le sang, puis relâché dans les poumons et l'air expiré.

Effet de l'addition de l'huile de Tournesol sur la production du méthane:

Le tournesol (*Helianthus Annuum*) donne de l'huile alimentaire, qui peut également être utilisée comme biocarburant. L'huile de tournesol (HT) est obtenue à partir des graines de tournesol, et constitue 40 % de sa composition (USDA, 2010). C'est une source de matière grasse qui peut être utilisée en tant que complément énergétique. Elle contient 12% d'acides

gras saturés et 88% d'acides gras insaturés (Khallouki *et al.*, 2003). Palmquist (1988) a rapporté que l'HT est constitué de 8 % d'acide palmitique (C16:0), 3% d'acide stéarique (C18:0), 13,5% d'acide oléique (C18:1), 75% d'acide linoléique (C18:2) et de 0,5% d'acide linoléique (C18:3).

Peu de recherches ont été menées sur les ruminants pour étudier l'effet de l'huile de tournesol sur la méthanogénèse ruminale et la plupart des études ont été réalisées *in vitro*. Avec sa richesse en acides gras insaturés, l'HT a été derrière une réduction significative des émissions de méthane chez les animaux de l'expérimentation. Ce résultat concorde avec plusieurs travaux. Beauchemin et McGinn (2006) ont rapporté que l'administration de l'huile de tournesol (45 g/kg de matière sèche) à des bovins d'embouche en croissance recevant une ration basée sur le fourrage a réduit les émissions de méthane de 11,5% à 22,0%.

Les résultats obtenus par le présent travail ont montré une réduction statistiquement significative de la production de méthane qui a atteint 8,1 %, mais qui est restée nettement inférieure aux réductions décrites dans la littérature. La quantité d'huile ajoutée a été 32,7 g/kg de matière sèche totale (3,27%), et selon Martin *et al.* (2009), la diminution de la production de méthane est proportionnelle à la quantité d'huile ajoutée à la ration avec une réduction de 6 à 15% en méthane pour 2 % de lipides ajoutés à la ration et une diminution de 40 à 42% en méthane pour 6% de lipides ajoutés à la ration. Toutefois, selon les recommandations du NRC (2001), la matière grasse de la ration alimentaire destinée aux ruminants ne doit jamais dépasser 6 à 7% de la matière sèche, dans le cas échéant des perturbations de la fermentation et une diminution de la prise alimentaire peuvent se produire.

La réduction de la production de méthane par l'addition d'acides gras insaturés (AGI) a été attribuée à leur rôles d'accepteurs d'électrons au cours des voies métaboliques des glucides au niveau du rumen (Hegarty, 1999), diminuant ainsi la concentration d'hydrogène libre et, par conséquent, la dépression de la méthanogénèse (Johnson et Johnson, 1995). Les AGI peuvent aussi limiter la méthanogénèse en inhibant les micro-organismes producteurs (protozoaires, bactéries cellulolytiques) et/ou utilisateurs (archaebactéries) de l'hydrogène ruminal. En effet, les acides gras alimentaires empêchent l'attachement des bactéries cellulolytiques sur les particules d'aliment, ce qui réduit leur efficacité. Les acides gras polyinsaturés (AGPI) pourraient également exercer un effet toxique directement sur les populations bactériennes. Ces inhibitions s'accompagnent ainsi d'un accroissement du pourcentage d'acide propionique dans le contenu ruminal et d'une réduction des émissions de CH₄ (Bauchart, 1981).

La comparaison de l'effet des trois types d'AG les plus fréquemment testés (oléique, linoléique et linoléique) donne des résultats variables d'un essai à l'autre, et les connaissances actuelles sur l'effet des différentes sources de lipides sur les populations microbiennes du rumen (Popova *et al.*, 2011) n'ont pas permis d'expliquer ces divergences. L'effet inhibiteur des lipides, notamment des acides gras polyinsaturés et en particulier l'acide

linoléique sur la méthanogénèse a été bien confirmé par les résultats du présent travail, et aussi par de nombreux travaux de recherche qui ont rapporté, en plus, les effets bénéfiques des huiles sur la digestibilité et l'amélioration du rendement animal. L'ajout des lipides aux aliments des ruminants peut augmenter le taux butyreux et augmenter l'énergie des régimes pour répondre aux exigences énergétiques des animaux à rendement élevé (Palmquist *et al.*, 1980). Parmi les AGPI, on trouve l'acide linoléique (C18:2) et il a été prouvé que son addition à l'aliment des ruminants diminue la concentration des protozoaires ciliés dans le rumen tout en augmentant la proportion des bactéries cellulolytiques. Cela contribue à la réduction des émissions de méthane tout en augmentant la digestion des fibres alimentaires et la qualité du lait (Ivan *et al.*, 2013). Moate (1989) a rapporté qu'une réduction de la faune ruminale par C18:2 a augmenté la production de lait de 13,5 % et les protéines de lait de 13,3 %. Quant à Ivan *et al.* (2004), ils ont décrit une réduction de 30 % dans les besoins en protéines chez des agneaux en croissance par l'ajout de C18:2 à la ration alimentaire, contribuant ainsi à une plus grande efficacité de l'utilisation des protéines alimentaires et à faire des économies sur les suppléments de protéines alimentaires.

Comparés aux travaux sur les animaux, les essais *in vitro* sont très utiles pour explorer en conditions contrôlées les effets d'un nombre important de substances, ils mettent souvent en évidence des effets significatifs sur la production de méthane. Cependant, les conclusions tirées sont parfois hâtives, car de nombreuses techniques permettant de réduire le méthane *in vitro* ne se révèlent pas efficaces *in vivo* car ils reproduisent imparfaitement les processus physiologiques dans le rumen. En règle générale, avant de recommander l'utilisation des huiles végétales comme stratégie pour réduire la production de méthane chez le bovin, d'autres travaux de recherches sont nécessaires *in vivo* pour valider les résultats observés *in vitro*. L'incorporation de l'huile de tournesol ne peut être que bénéfique, en tenant compte de sa qualité-prix, de sa disponibilité sur le marché et de ses multiples vertus. Le produit utilisé dans ce travail a coûté environ 3,2 dirhams (0,3 euro)/vache/jour, un prix raisonnable pour l'éleveur qui va bénéficier d'une amélioration des performances de son troupeau tout en participant, même à un degré minime, à la réduction d'un gaz à effet de serre dangereux.

RÉFÉRENCES

- Aguerre M.J., Wattiaux M.A., Powell J.M., Broderick G.A., and Arndt C. (2011). Effect of forage-to-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide, and ammonia, lactation performance, and manure excretion. *J. Dairy Sci.* 94: 3081–3093.
- Bauchart D. (1981). Digestion comparée des lipides chez les ruminants et les monogastriques. *Bull. Tech. CRZV Theix, INRA* 46: 45-55.
- Beauchemin K.A., McGinn S.M. (2006). Methane emissions from beef cattle: effects of fumaric acid essential oil and canola oil. *J. Anim. Sci.*; 84:1489-96.

- Benchaar C. and Greathead H. (2011). Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 166-167:338-355.
- Boadi D. A. and K. M. Wittenberg (2002). Methane production from dairy and beef heifers fed forages differing in nutrient density using the sulfur hexafluoride (SF6) tracer gas technique. *Canadian Journal of Animal Science* 82: 201-206.
- Hegarty R.S., Goopy J.P., Herd R.M. and McCorkell B. (2007). Cattle selected for lower residual feed intake have reduced daily methane production. *Journal of Animal Science* 85:1479-1486.
- Hegarty R. S. (1999). Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa. *Aust. J. Agric. Res.* 50: 1321-1327.
- Ivan M., Petit H. V., Chiquette J. and Wright A. D. G. (2013). Rumen fermentation and microbial population in lactating dairy cows receiving diets containing oilseeds rich in C-18 fatty acids. *British J. of Nutr.* 109:1211-1218
- Ivan M, Mir PS, Mir Z., Entz T., He M.L. and McAllister T.A. (2004). Effects of dietary sunflower seeds on rumen protozoa and growth of lambs. *Br. J. Nutr.* 92:303-310.
- Jouany J.P., Nsabimana E., Kisidayova S., Michalowski T. and Machaboeuf D. (2002). Why cannot some species of protozoa grow in the rumen? *Reproduction Nutrition Development*, 42(suppl.1), p80.
- Johnson K.A and Johnson D.E. (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science* 73: 2483-2492.
- Khallouki F, Younos C, Soulimani R, Oster T, Charrouf Z, Spiegelhalter B, Bartsch H. and Owen R.W. (2003). Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. *European journal of cancer prevention* 12:67-75.
- Murray R.M., Bryant A.M. and Leng R.A. (1976). Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. *British Journal of Nutrition* 36: 1-14.
- Martin C., Ferlay A., Chilliard Y. and Doreau M. (2009). Decrease in methane emissions in dairy cows with dietary linseed content. *Proc. Ann. Meet. Brit. Soc. Anim. Sci.*, Southport, Royaume-Uni, 21.
- Moate PJ (1989). Defaunation increases milk yield of dairy cows. In *Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*, p. 18A (DJ Farrell, editor). Armidale, NSW: University of New England Printery.
- Nkrumah J.D., Okine E.K., Mathison G.W., Schmid K., Li C., Basarab J.A., Price M.A., Wang Z. and Moore S.S. (2006). Relationships of feedlot feed efficiency, performance, and feeding behavior with metabolic rate, methane production, and energy partitioning in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 84: 145-153.
- National Research Council (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Palmquist, D. L. (1988). The feeding value of fats. In *Feed Science* (Ed. E. R. EdØrskov), Elsevier Science, Amsterdam. pp. 293-311.
- Popova M., Morgavi D.P., Doreau M. et Martin C. (2011). Production de méthane et interactions microbiennes dans le rumen, dans "Gaz à effet de serre en élevage bovin : le méthane". Doreau M., Baumont R., Perez J.M. (Eds). Dossier, INRA Prod. Anim. 24, 447-460.
- Palmquist, D.L. and T.C. Jenkins (1980). Fat in lactation rations: Review. *Journal of Dairy Science* 63: 1-14.
- Sun H., S. L. Trabue, K. Scoggin, W. A. Jackson, Y. Pan, Y. Zhao, I. L. Malkina, J. A. Koziel, and F. M. Mitloehner (2008). Alcohol, volatile fatty acid, phenol, and methane emissions from dairy cows and fresh waste. *J. Environ. Qual.* 37:615-622.
- Sauvant D., Eugène M. et Martin C. (2012). Académie d'Agriculture de France. Séance du 21 mars.
- Teacher R.M., Mahadevan S., Erfle J.D. and Sauer F.D. (1984). Negative correlation between protozoal and bacterial levels in rumen samples and its relation to the determination of dietary effects on the rumen microbial population. *App. Envir. Micr.* 47: 566-570.
- U.S. Department of Agriculture USDA (2010). Soybeans and Oil Crops: Sunflower seed. USDA, Economic Research Service, Briefing Rooms.
- Vermorel, M. (1995). 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.