

Métabolisme ruminal et digestibilité des acides gras des fourrages

M. DOREAU (1), M.R.F. LEE (2), K. UEDA (1et 3), N.D. SCOLLAN (2)

(1) INRA Unité de Recherches sur les Herbivores, Theix 63122 Saint-Genès Champanelle, France

(2) IGER Nutrition and Microbiology Team, Plas Gogerddan, Aberystwyth, SY23 3EB, Royaume-Uni

(3) Adresse actuelle : Graduate School of Agriculture, Hokkaido University, 060-8589 Sapporo, Japon

RESUME - Les fourrages présentent de faibles teneurs en lipides mais sont riches en acide linoléique et donc susceptibles de fournir des acides gras (AG) polyinsaturés aux animaux. Le devenir des AG dans le rumen et leur digestibilité sont mal connus. Une série de 4 essais a comparé trois formes de conservation (vert, ensilé, fané ou enrubanné) de 4 fourrages (2 dactyles, trèfle violet, *ray-grass* anglais) sur des moutons pourvus de canules. Le séchage du fourrage a provoqué une diminution importante de la teneur en AG, de la proportion d'acide linoléique, mais aussi du degré d'hydrogénation, ce qui a limité les variations d'AG absorbables. On observe au niveau duodénal une grande variété d'isomères monoinsaturés trans à 18 atomes de carbone, dont l'acide transvaccénique est le plus important, mais des teneurs très faibles en acides linoléiques conjugués (CLA) suggérant que le CLA du lait et de la viande provient très majoritairement de la désaturation de l'acide transvaccénique. La digestibilité des AG a été un peu plus élevée pour le fourrage vert et l'ensilage que pour le foin et l'enrubannage. Un essai *in vivo* mené sur bouvillons porteurs de canules a comparé le métabolisme ruminal des AG du *ray-grass* anglais, du trèfle blanc ou violet, et des mélanges entre le *ray-grass* et chacun de ces trèfles. L'hydrogénation de l'acide linoléique a été plus faible pour le trèfle violet et le mélange trèfle violet – *ray-grass*. Il a été suggéré que la réduction spécifique de l'hydrogénation avec le trèfle violet venait de sa richesse en *polyphénol oxydase* (PPO). Cette hypothèse a été testée *in vitro*, avec un cultivar normal riche en PPO, un cultivar pauvre et le même dans lequel la PPO a été inactivée. La lipolyse induite par la plante a été d'autant plus faible que la teneur en PPO était élevée. Ces différents essais ont permis d'améliorer les connaissances sur la digestion des AG des fourrages. Les particularités du trèfle violet restent à préciser.

Ruminal metabolism and absorption of fatty acids from forages

M. DOREAU (1), M.R.F. LEE (2), K. UEDA (1)(3), N.D. SCOLLAN (2)

(1) INRA Unité de Recherches sur les Herbivores, Theix 63122 Saint-Genès Champanelle, France

SUMMARY - Forages are low in fatty acids (FA) but these FA are rich in linolenic acid ; it can thus be thought that forages are a valuable source of polyunsaturated FA for ruminants ; however their ruminal metabolism and their digestibility are not well known. A series of 4 experiments was carried out on 4 forages (2 cocksfoots, red clover, perennial ryegrass) as fresh grass, silage and hay (or haylage) on cannulated sheep. Forage drying resulted in a decrease in FA content and in the proportion of linolenic acid. Hydrogenation was also reduced by drying, so that the amount of absorbable FA was only slightly modified. Ruminal metabolism produced a large variety of 18-carbon trans monounsaturated isomers, of which transvaccenic acid was the main one, and very limited amounts of conjugated linoleic acids (CLA). This suggests the post-ruminal origin of meat and milk CLA, by desaturation of transvaccenic acid. Fatty acid digestibility was slightly higher for fresh grass and silage than for haylage and hay. An *in vivo* trial was carried out on cannulated steers receiving perennial ryegrass, white or red clover, and the mixtures of ryegrass and each of the clovers. Hydrogenation of linolenic acid was lower for red clover, alone or mixed with ryegrass. This effect of red clover could be due to its high content in polyphenol oxidase (PPO). This hypothesis has been studied *in vitro*, with a classical line rich in PPO, a line poor in PPO and the same line in which PPO was inactivated. Plant-induced lipolysis was reduced by high PPO content. These experiments improved the knowledge on FA digestion for forages. However, the specificities of red clover remain to be better known.

INTRODUCTION

La modulation de la composition en acides gras (AG) du lait ou de la viande de ruminants est difficile, du fait de l'action des microorganismes du rumen qui, dans un premier temps, hydrolysent les lipides (lipolyse) puis hydrogènent les AG libérés. Ainsi l'acide linoléique (C18:3 n-3) et l'acide linoléique (C18:2 n-6) sont hydrogénés en acides monoinsaturés, essentiellement trans et en acide stéarique saturé. L'accroissement de la teneur en AG polyinsaturés (AGPI) du lait et de la viande, bénéfique pour la santé du consommateur, ne peut être obtenu que si l'hydrogénation est limitée. Les fourrages contiennent de 1 à 3 % d'AG (le maximum étant observé pour l'herbe jeune) et sont riches en acide linoléique. Une herbe jeune apporte autant d'AGPI qu'une ration hivernale supplémentée avec 5 % de graines de tournesol ou de lin, ou avec 10 % de graine de soja. Mais il y a peu de données sur le niveau et les facteurs de variation de l'hydrogénation des AGPI des fourrages.

Il est connu que le fanage réduit la teneur en AG et la proportion d'acide linoléique du fourrage ; l'effet de l'ensilage est plus discuté. L'hydrogénation des AG pourrait

être plus complète dans le cas du fourrage vert, car à l'action des lipases des microorganismes du rumen s'ajouterait celle des lipases du fourrage. Cela reste toutefois à démontrer.

Parmi les fourrages, le trèfle violet mérite une attention particulière. Sa protéolyse est plus faible que celle d'autres fourrages, probablement en raison de la présence d'une enzyme spécifique, la *polyphénol oxydase* (PPO), qui oxyde les acides phénoliques pour former des quinones qui protègent les protéines de la dégradation ruminale (Jones *et al.*, 1995). Il est intéressant de déterminer si la PPO a un effet comparable sur la lipolyse, dont la réduction entraînerait une limitation de l'hydrogénation, phénomène qui ne se produit que sur les acides gras libérés par la lipolyse.

Les études présentées ici ont donc eu deux objectifs :

- comparer l'hydrogénation ruminale et la digestibilité intestinale du fourrage vert, de l'ensilage et du foin, pour deux graminées et une légumineuse ;
- confirmer la plus faible hydrogénation du trèfle violet, et vérifier si elle est due à la *polyphénol oxydase* ; vérifier dans le cas du fourrage vert que les enzymes de la plante contribuent à la lipolyse.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. EFFET DE LA CONSERVATION DU FOURRAGE

Quatre essais ont été conduits à l'INRA avec du dactyle (2 années différentes, D1 et D2), du trèfle violet, variété *Merviot* (TV) et du *ray-grass* anglais (RG). Les fourrages ont été récoltés au stade ensilage et soit ensilés (E) en coupe directe avec conservateur, à l'exception du *ray-grass* qui a été préfané, soit fanés (F) au sol par beau temps, à l'exception du trèfle violet pour lequel, en raison des conditions climatiques, le fanage a été remplacé par l'enrubannage (BR). En raison d'un problème de stockage du RG en vert avant analyse, les résultats correspondants n'ont pas été exploités.

Les fourrages ont été distribués à 6 moutons porteurs de canules du rumen, du duodénum proximal et de l'iléon terminal, au moment de la récolte pour l'herbe verte (H), à l'automne pour les fourrages conservés. Les flux duodénaux et iléaux ont été déterminés par double marquage avec ^{103}Ru -phenanthroline et ^{51}Cr -EDTA. La digestibilité dans l'intestin grêle a été mesurée par différence entre les flux duodénaux et iléaux. Les AG ont été déterminés sur des esters méthyliques par chromatographie en phase gazeuse (Loor *et al.*, 2004). Les résultats ont fait l'objet d'analyses séparées pour chaque fourrage, l'analyse de variance incluant l'effet mode de conservation et l'effet animal et, pour le dactyle, l'effet année.

1.2. UTILISATION DU TREFLE VIOLET

Un essai conduit à l'IGER a comparé sur 10 bouvillons Hereford x Friesian 5 ensilages : *ray-grass* anglais, trèfle blanc (TB), trèfle violet variété *Milvus*, et des mélanges de *ray-grass* anglais (60 %) et de trèfle blanc ou violet (40 %), selon un schéma en inversion à deux périodes pour chaque trèfle, le *ray-grass* étant le témoin (2 répétitions). Les mesures et méthodes ont été identiques à celles du premier essai, excepté la mesure du flux qui a été déterminée par marquage à l'acétate d'ytterbium et au Cr-EDTA froids.

Un essai *in vitro* mené à l'IGER a permis de mesurer la vitesse d'hydrolyse des lipides du TV. Deux cultivars de TV *Milvus* à teneur normale (N) et faible (F) en PPO ont été utilisés. Le cultivar F a été traité à l'acide ascorbique pour

inactiver la PPO (I). Les concentrations en quinones, témoins de l'activité de la PPO, étaient de 95, 59 et 39 mg/g de protéines pour les trèfles N, F et I. Une cinétique d'incubation sur 12 h à température ambiante a été réalisée dans un tampon citrate-phosphate à pH 7, contenant un antibiotique afin de ne prendre en compte que l'hydrolyse par les enzymes du fourrage vert en éliminant toute contamination microbienne. A chaque temps d'incubation, les classes de lipides ont été séparées par chromatographie sur couche mince puis le degré de lipolyse a été déterminé à partir des variations de teneur en AG libres des lipides pariétaux.

2. RESULTATS

2.1. EFFET DE LA CONSERVATION DU FOURRAGE

Lorsque les ensilages sont en coupe directe, la teneur en AG a été égale ou légèrement supérieure à celle de l'herbe fraîche (tableau 1) ; les valeurs plus élevées avec l'ensilage, ce qui est fréquemment observé dans la bibliographie, pourraient être dues à la perte de composés non lipidiques lors du processus d'ensilage. Le fanage a réduit très fortement les teneurs en AG et la proportion d'acide linoléique dans le fourrage.

Comme cela est généralement observé, l'hydrogénation a été plus complète pour l'acide linoléique que pour l'acide linoléique. Pour le dactyle, l'hydrogénation des acides linoléique et linoléique a été plus forte avec l'herbe verte et l'ensilage qu'avec le foin ($P < 0,01$). Pour le trèfle, l'hydrogénation de l'acide linoléique a été plus forte pour le fourrage vert et l'ensilage que pour l'enrubannage, mais celle de l'acide linoléique a été plus forte pour l'ensilage que pour le fourrage vert et l'enrubannage ($P < 0,01$). Pour le *ray-grass*, il n'y a pas eu de différences d'hydrogénation entre l'ensilage, qui était préfané, et le foin ($P > 0,05$). Ces résultats ont pour conséquence des différences limitées dans les quantités d'AGPI absorbables, la différence d'hydrogénation compensant la plus faible teneur en AGPI du foin par rapport à l'herbe verte et à l'ensilage. Dans cet essai, le trèfle violet ne s'est pas distingué par une hydrogénation plus faible.

Tableau 1 : AG ingérés et hydrogénation ruminale des AGPI chez le mouton recevant des fourrages verts, ensilés ou fanés (Doreau *et al.*, 2003 et non publié)

	D1 H	D1 E	D1 F	D2 H	D2 E	D2 F	TV H	TV E	TV BR	RG E	RG F
Composition du fourrage											
AG, % matière sèche	1,19	1,58	0,64	1,43	1,56	1,23	1,25	1,63	0,86	1,0	1,0
C18:3 n-3, % AG	41,9	50,4	21,6	53,1	53,1	50,2	40,0	40,8	31,0	29,7	29,6
C18:2 n-6, % AG	14,4	14,3	13,5	15,5	16,5	16,5	19,3	21,2	22,1	18,9	18,1
AG ingérés (g/j)	15,9	20,9	7,4	17,1	18,9	14,9	16,0	21,7	11,1	13,1	13,2
Flux duodénaux (g/j)											
AG totaux	23,8	20,7	12,1	20,3	20,0	18,6	19,1	17,5	13,0	23,7	14,2
C18:3 n-3	0,15	0,15	0,30	0,52	0,60	0,94	0,22	0,47	0,29	0,30	0,30
C18:2 n-6	0,20	0,19	0,24	0,44	0,41	0,46	0,37	0,44	0,30	0,34	0,33
Hydrogénation (%)											
C18:3 n-3	97,9	98,6	81,2	94,3	94,0	87,4	96,6	94,7	91,5	92,3	91,4
C18:2 n-6	91,3	93,7	76,2	83,4	86,7	81,2	88,2	90,4	87,8	86,2	86,1

D1 et D2 : dactyle années 1 et 2 ; **TV** : trèfle violet ; **RG** : *ray-grass* anglais ; **H** : herbe verte ; **E** : ensilage ; **F** : foin ; **BR** : balle ronde.

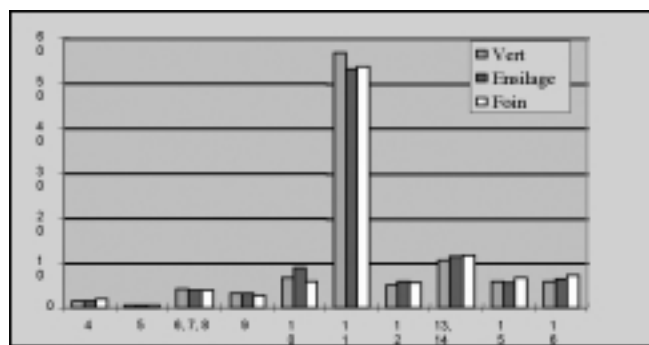
Onze pics de CLA (acides linoléiques conjugués) ont été séparés dans les contenus digestifs, représentant au moins 13 isomères, plusieurs d'entre eux étant coélus. La teneur en CLA total des contenus duodénaux a été très faible : 0,22 % des AG en moyenne, dont seulement 9 % était

l'isomère cis 9 trans 11, majoritaire dans les tissus. Dix pics d'AG monoinsaturés trans ont été isolés, représentant 13 isomères, et au total 9,6 % des AG duodénaux. L'acide transvaccénique (18:1 trans 11) en a représenté de 31 à 57 % La figure 1 illustre la proportion des différents isomères

pour l'un des dactyles étudiés. La proportion des AG monoinsaturés trans a été plus élevée avec l'herbe verte et l'ensilage (de 9,1 à 13,2 % des AG) qu'avec le foin et les balles rondes (de 5,2 à 8,9 % des AG).

Cette différence liée à la conservation est accrue par le fait que l'herbe verte et l'ensilage sont les plus riches en AG et en particulier en AGPI ; les différences de quantités absorbables de ces AG sont donc importantes.

Figure 1 : répartition des isomères 18:1 trans au niveau duodénal pour une ration de dactyle vert, ensilé ou fané



Pour les quatre fourrages, la digestibilité intestinale des AG a été plus élevée pour l'herbe verte et l'ensilage (80 à 86 %) que pour les balles rondes et le foin (74 à 80 %). Les différences de digestibilité entre AG sont comme suit : palmitique (16:0) < stéarique (18:0), stéarique > linoléique > linoléique > oléique (18:1 cis), 18:1 trans > 18:1 cis. Les différences de digestibilité des CLA et des 18:2 non conjugués ont été peu cohérentes entre fourrages, peut-être parce que leurs faibles concentrations entraînaient une faible précision de la mesure. A titre d'exemple, les digestibilités moyennes dans l'intestin grêle des ensilages ont été de : 89,

79, 73, 52, 93, 64, 83 et 78 % pour les acides stéarique, linoléique, linoléique, oléique, somme des 18:1 trans, somme des 18:1 cis, CLA, somme des 18:2 non conjugués.

2.2 INTERET DU TREFLE VIOLET

Les ensilages de trèfle avaient des teneurs en AG plus élevées que les ensilages de *ray-grass*, le trèfle blanc étant lui-même près de deux fois plus riche en AG que le trèfle violet (tableau 2). Le flux duodénal d'AG a été supérieur à la quantité d'AG ingérés seulement pour les régimes contenant du *ray-grass*. On observe une plus forte disparition, et donc une plus faible hydrogénation des AG polyinsaturés pour le trèfle blanc et violet et, ce qui est plus surprenant, pour l'association trèfle-*ray-grass*. L'hydrogénation de l'acide oléique a été plus faible, en particulier avec les mélanges : 45, 66, 52, 33 et 35 % pour les régimes RG, TV, TB, RGTV et RGTB.

Dans cet essai également, les flux d'AG monoinsaturés trans (de 3,2 à 7,2 g/j) sont très supérieurs aux flux de CLA (de 0,74 à 2,66 g/j pour l'isomère cis 9 trans 11), bien que les différences soient moins marquées que dans les essais réalisés à l'INRA.

Les digestibilités intestinales des AG, comprises entre 79 et 90 %, ont été supérieures à celles observées dans les essais précédents, et comparables pour les 5 traitements. Les différences de digestibilité entre AG observées dans les essais précédents ont été confirmées dans cet essai.

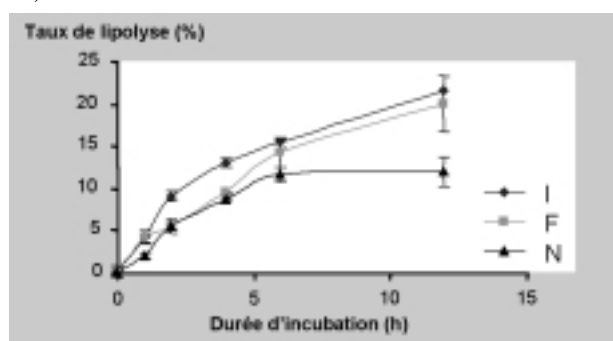
L'essai *in vitro* (figure 2) a montré une différence significative de vitesse de lipolyse et de lipolyse totale entre les trois trèfles. On constate en premier lieu que la lipolyse liée aux lipases du fourrage vert est non négligeable. Cette lipolyse s'ajoute donc à l'importante lipolyse d'origine microbienne. Par ailleurs, cet essai met en évidence le rôle de la PPO pour ralentir la lipolyse.

Tableau 2 : effet du type de fourrage ensilé sur le métabolisme ruminal des AG (Lee *et al.*, 2003).

	RG	TV	RGTV	TB	RGTB	e.s.	P
MS ingérée (kg/j)	4,2	6,4	7,0	8,4	8,5	0,64	0,05
AG ingérés (g/j)							
AG totaux	75,5	154,7	110,6	204,2	171,0	26,2	0,01
C18:3 n-3 linoléique	35,7	67,8	48,2	91,9	74,7	11,5	0,01
C18:2 n-6 linoléique	10,6	27,8	18,0	38,0	29,5	4,6	0,01
Flux duodénal (g/j)							
AG totaux	109	144	142	193	200	44,0	0,05
C18:3 n-3 linoléique	2,69	11,0	12,3	11,4	11,6	3,05	0,05
C18:2 n-6 linoléique	1,44	4,37	3,80	6,60	6,40	1,68	0,05
Hydrogénation (%)							
C18:3 n-3 linoléique	92	84	79	88	85	2,9	0,01
C18:2 n-6 linoléique	86	84	83	83	80	4,1	NS

RG : *ray-grass* anglais ; TV : trèfle violet ; RGTV : mélange RG + TV ; TB : trèfle blanc ; RGTB : mélange RG + TB ; e.s. : erreur standard

Figure 2 : effet de la teneur en PPO du trèfle violet (I = inactivé, F = faible, N = normal) sur la lipolyse (Lee *et al.*, 2004).



3. DISCUSSION

3.1. CARACTERISTIQUES DE LA DIGESTION DES ACIDES GRAS DES FOURRAGES

La remarque principale est la très forte hydrogénation des AGPI, en particulier de l'acide linoléique. Ceci confirme des données obtenues sur *ray-grass* en vert (Doreau *et al.*, 2005) ce qui n'est pas surprenant vu que le principal facteur limitant l'hydrogénation est un pH faible, lequel est induit par les rations riches en concentré (Doreau et Ferlay, 1994). Par ailleurs, l'existence d'une lipolyse due aux enzymes natives du fourrage vert contribue à accroître le phénomène d'hydrogénation.

On a longtemps pensé que le CLA du lait et de la viande de ruminants provenait directement du CLA produit dans le rumen, d'où le nom d'acide ruménique souvent donné à l'isomère majoritaire dans les produits, le cis 9 trans 11. Il a ensuite été établi qu'une part majoritaire de l'acide ruménique était synthétisée dans la mamelle ou d'autres tissus par une $\Delta 9$ -désaturase. Ces résultats, confirmant ceux obtenus sur des rations mixtes (Loor *et al.*, 2004) montrent clairement que les concentrations en CLA, particulièrement en acide ruménique, sont très faibles au niveau duodénal. Il est patent que la presque totalité de l'acide ruménique des produits provient de la désaturation de l'acide transvaccénique, lequel est produit en quantités beaucoup plus importantes dans le rumen.

Lorsque les techniques d'analyse des AG étaient insuffisamment précises, on assimilait l'unique pic de chromatographie correspondant au C18:1 trans au seul acide transvaccénique. En fait, le C18:1 trans est constitué de nombreux isomères de position, dont l'origine et l'intérêt nutritionnel demeurent mal connus. Toutefois, le transvaccénique est majoritaire avec des rations à base de fourrage, alors qu'avec des rations mixtes d'autres isomères, comme le trans 10 par exemple, peuvent représenter une fraction non négligeable des C18:1 trans (Loor *et al.*, 2004). Il est probable que le trans 10 dérive prioritairement de l'acide linoléique (Jouany et Lassalas, 2003 et non publié), alors que le trans 11 provient à la fois des acides linoléique et linoléinique.

3.2 COMPOSITION EN ACIDES GRAS ET DIFFERENCES D'HYDROGENATION LIEES A LA CONSERVATION DU FOURRAGE

Les variations de teneur et de composition en AG confirment les données bibliographiques (Boufaïed *et al.*, 2003). L'ensilage non préfané et le fourrage vert sont plus riches en AG et en acide linoléinique que l'ensilage préfané, l'enrubannage et surtout le foin. L'hydrogénation suit exactement les mêmes tendances. La diminution d'AG se traduit par une plus faible hydrogénation. Il est possible que ceci soit dû à une plus faible accessibilité aux enzymes des AG résiduels du fourrage ayant subi un séchage, les plus accessibles dans le fourrage initial ayant disparu. Il est également possible que la lipolyse non bactérienne ait été plus active dans le cas de fourrages non soumis au séchage. Le fanage entraînant simultanément une perte d'acides gras et une limitation de l'hydrogénation agit donc peu sur les quantités d'AG absorbables par l'animal. Ce résultat inattendu demande toutefois confirmation.

3.3 PARTICULARITES DU TREFLE VIOLET

Les essais réalisés à l'IGER ont montré que les AG du trèfle violet tendaient à être moins hydrogénés que ceux d'autres fourrages. Cela avait été montré *in vitro* par Lee *et al.* (2003) qui avaient comparé le trèfle violet au *ray-grass*. Le rôle de la PPO pour réduire la lipolyse semble se confirmer. Toutefois, cette tendance n'est pas générale, puisque les résultats obtenus à l'INRA sur trèfle violet (pour lequel les teneurs du fourrage en PPO n'ont pas été contrôlées) n'ont pas confirmé cette réduction d'hydrogénation. Inversement, un essai de l'IGER a montré une hydrogénation de l'ordre de 80 % seulement pour l'acide linoléique du *ray-grass* (Scollan *et al.*, 2003).

L'hydrogénation a été encore plus faible pour le mélange *ray-grass*-trèfle violet. Aucune explication n'a été trouvée ; on peut toutefois penser que l'action protectrice de la PPO agit sur l'ensemble des lipides de la ration.

3.4. DIGESTIBILITE INTESTINALE

La digestibilité intestinale des lipides des fourrages est élevée. La différence de digestibilité des AG totaux entre les essais menés à l'INRA et à l'IGER est difficile à expliquer, car les méthodes de mesure de flux et d'analyse des AG sont très proches. Le fait que la mesure concerne l'intestin grêle à l'INRA et l'intestin total à l'IGER aurait du entraîner une valeur plus faible à l'IGER, en raison d'une synthèse de lipides non suivie d'absorption dans le gros intestin. En revanche, les différences de digestibilité entre acides gras sont comparables entre l'INRA et l'IGER, et à la moyenne des données bibliographiques (Glasser *et al.*, non publié).

La digestibilité est plus élevée pour le fourrage vert et l'ensilage coupe directe que pour le foin. Il n'y a pas d'éléments comparatifs dans la bibliographie ; mais on remarque que ce sont les fourrages pour lesquels l'hydrogénation est la plus complète qui sont aussi les mieux digérés. L'hypothèse évoquée pour le rumen d'une accessibilité aux enzymes microbiennes plus faible pour les foins pourrait donc s'étendre à l'intestin.

CONCLUSION

Ces différents travaux ont permis une meilleure connaissance du métabolisme ruminal et de la digestibilité intestinale des AG des fourrages, qui n'avait jusqu'à présent fait l'objet que d'un nombre limité d'essais, souvent anciens et donc ignorant les CLA et les AG trans. L'hydrogénation a été plus complète et la digestibilité intestinale plus élevée avec le fourrage vert et l'ensilage qu'avec l'enrubannage et le foin. Les variations de quantités absorbées d'AGPI restent toutefois modestes. Les variations intra fourrage semblent supérieures aux différences entre fourrages. La possible baisse de l'hydrogénation avec le trèfle violet vert ou ensilé est une piste intéressante. Elle demande toutefois confirmation, et le rôle de la PPO nécessite d'être mieux connu.

Ce travail en coopération franco-britannique a été réalisé grâce à des fonds européens : projet HealthyBeef QLK1-CT-2000-01423.

- Boufaïed A., Chouinard P.Y., Tremblay G.F., Petit H.V., Michaud R., Bélanger G., 2003.** *Can. J. Anim. Sci.*, 83, 501-511
- Doreau M., Ferlay A., 1994.** *Anim. Feed Sci. Technol.*, 45, 379-396
- Doreau M., Ueda, K., Poncet C., 2003.** *Trop. Subtrop. Agroec.*, 3, 289-293
- Doreau M., Peyraud J.L., Rearte D., 2005.** *In: Hocquette J.F., Gigli S., Indicators of milk and beef quality*, Wageningen Pers, 327-331
- Jones B.A., Muck R.E., Hatfield R.D., 1995.** *J. Sci. Fd Agric.*, 67, 329-333
- Jouany J.P., Lassalas B., 2003.** *Proc. 22nd Ann. Meet. German Soc. Protozoology*, Nijmegen, p. 94
- Lee M.R.F., Harris L.J., Dewhurst R.J., Merry R.J., Scollan N.D., 2003.** *Anim. Sci.*, 76, 491-501
- Lee M.R.F., Winters A.L., Scollan N.D., Dewhurst R.J., Theodorou M.K., Minchin F.R., 2004.** *J. Sci. Fd Agric.*, 84, 1639-1645
- Loor J.J., Ueda K., Ferlay A., Chilliard Y., Doreau M., 2004.** *J. Dairy Sci.*, 87, 2472-2485
- Scollan N.D., Lee M.R.F., Enser M., 2003.** *Anim. Res.*, 52, 501-511