ÉTUDES SUR LES VARIATIONS DE LA RICHESSE EN CONSTITUANTS AZOTÉS DES LAITS DE VACHE

II. — ÉVOLUTION AU COURS DE LA LACTATION ET DE LA GESTATION

PAR

R. JARRIGE et C. ROSSETTI ⁽¹⁾ ⁽²⁾

Station de Recherches sur L'Elevage, C. N. R. Z., Jouy en Josas.

Dans le cadre de l'étude systématique des variations de la teneur en constituants azotés des laits individuels poursuivie depuis janvier 1952 (cf. JARRIGE 1953), nous avons, d'abord, cherché à établir une courbe de référence traduisant leur « évolution physiologique » au cours de la lactation, pour discuter ensuite, par rapport à celle-ci :

- la nature et la « répétabilité » des différences individuelles,
- les conditions pratiques de leur estimation,
- l'influence des facteurs physiologiques, alimentaires et climatiques,
- les relations entre teneur en protéines et taux butyreux.

En effet, les travaux de Van SLYKE (1908), ECKLES et SHAW (1913), LEMVIGH (1931), BECKER (1934), PRESSLER (1937), AZARME (1938), LONKA (1947), BONNIER et al. (1947), LARSSON et al. (1949), NESENI et KORPRICH (1947), LEYDOLPH et ULRICH (1952), GRABISCH (1953), PIEL (1953) et COMBERG (1951), montrent que le stade de lactation est le facteur primordial de la richesse du lait en protéines, aussi bien qu'en matières grasses. Nous rapportons ici les premiers résultats de cette étude, dont nous donnons par ailleurs un aperçu plus récent (JARRIGE 1956).

(¹) C. ROSSETTI, Ingénieur Agronome (Zurich) ; adresse actuelle : F. A. O. Rome.

(²) Avec la collaboration technique de M^{me} J. JUNG, M^{me} C. Le GALLO et M^r R. DUPIN.

TABLEAU I

Liste des animaux. Composition moyenne du lait au cours de la lactation (moyenne pondérée).

Animaux	Numéro de lactation	Date de vêlage	Longueur lactation jours	Nombre analyses	Lait kg	Matières grasses g p. 1000	Matières azotées totales g p. 1000	Caséine g p. 1000
<i>Race Frisonne:</i>								
Isabelle	2	24/2/53	251	25	3 131	30,9	31,3	24,2
Idylle	2	20/2/53	300	29	4 223	33,7	31,0	23,9
Eglantine	2	12/2/53	327	33	6 359	33,4	32,0	24,4
Begonia	2	16/2/53	300	30	4 092	37,0	32,7	25,9
Pervénche	2	26/2/53	308	31	4 899	37,3	32,7	26,1
Hortensia	2	15/3/53	306	32	4 525	32,4	31,6	24,2
Pietje	2	10/4/53	305	30	3 774	33,4	31,9	25,4
Jonquille	4	12/2/53	306	31	5 011	37,5	33,3	26,0
Rose	5	6/5/53	259	25	3 491	30,0	28,3	21,6
Dahlia	5	26/3/53	322	32	5 040	32,9	30,7	23,5
Tulipe	5	18/4/53	319	34	4 782	34,6	31,6	24,8
Pivoine	4	15/4/53	319	32	5 062	32,2	30,1	22,9
Anémone	4	19/2/53	321	32	5 541	32,6	31,5	24,3
Charmante	5	28/2/53	283	26	6 473	32,2	30,9	23,6
<i>Race Normande:</i>								
Roulette	1	3/12/52	291	28	2 227	38,8	37,3	29,0
Pastille	1	25/12/52	288	26	3 074	44,1	37,3	29,1
Linotte	1	13/3/53	304	29	2 601	45,1	37,2	28,6
Cocardé	1	25/5/53	319	33	2 797	41,6	33,8	26,2
Étamine	1	2/7/53	291	30	2 022	43,4	37,3	28,0
Actée	2	7/12/52	424	40	4 693	46,6	39,8	31,2
Alcippe	2	25/5/53	316	33	3 303	45,7	39,3	31,4
Astrée	2	6/4/52	371	33	3 121	42,2	34,7	26,4
Cabale	2	7/12/52	272	25	3 158	38,3	35,0	27,6
Caline	2	28/4/53	288	29	2 387	43,0	33,8	25,9
Joliette	2	23/4/53	286	28	2 463	47,2	34,6	27,2
Rosette	4	13/11/52	341	31	3 929	36,9	38,0	30,0

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les observations préliminaires poursuivies en 1952 sur 22 vaches (environ 500 échantillons dont les résultats seront utilisés ultérieurement pour la « répétabilité » des courbes), nous ont permis de définir les conditions et l'espacement des prélèvements qui ont été adoptés pour la présente étude réalisée entre le 15 novembre 1952 et le 20 avril 1954, sur 855 échantillons de laits individuels.

Animaux.

Au cours de cette période, nous avons suivi 28 vaches du troupeau du C. N. R. Z. : 16 Frisonnes pie noire, 11 Normandes et 1 Pie rouge de l'Est, dont le tableau I donne la liste et les caractéristiques. Nous les avons toutes utilisées pour l'étude des trois premiers mois de lactation, mais nous avons dû ensuite éliminer 2 vaches Frisonnes qui n'ont pu être fécondées. Nous avons fait saillir les vaches au cours des 3^e-4^e mois, de façon à avoir des lactations normales dont la durée moyenne a été finalement de 306 jours, avec cependant deux écarts importants (424 et 371).

Les vêlages se sont succédés du 13 novembre 1952 au 2 juillet 1953, ce qui a permis de répartir l'interférence des facteurs climatiques et alimentaires. Pour réduire au minimum l'influence de l'alimentation, nous l'avons toujours maintenue abondante. Pendant la période de stabulation (novembre 1952-10 avril 1953 ; 3 novembre 1953-15 avril 1954), elle a été composée des aliments types du Bassin Parisien : foin de luzerne — ensilages de pulpes ou de feuilles et collets de betteraves — ensilages de fourrages verts — concentré, pour les productions supérieures à 8-12 kg, selon la qualité des constituants de la ration de base. Au pâturage (10 avril-3 novembre 1953), les vaches ont eu chaque jour une parcelle d'herbe jeune à brouter limitée par une clôture électrique, complétée par une ration de fourrages verts (vesce avoine-luzerne...) pendant les mois d'été ; selon l'abondance et la qualité de ces fourrages, elles ont reçu 0,5 kg de concentré par kg de lait produit au-dessus de 12 à 20 kg.

Prélèvements et analyses.

Nous avons adapté l'espacement des prélèvements à la rapidité d'évolution de la composition du lait (graphique 2 - courbe préliminaire 1952) : nous en avons fait un par semaine au cours des deux premiers et des deux derniers mois de la lactation et, un par quinzaine, pendant la période intermédiaire.

Les échantillons de lait ont été prélevés sur quatre traites successives (48 heures) pour atténuer les fluctuations journalières du taux butyreux et de la quantité de lait. Cependant, pour les vaches traites 3 fois par jour

(production supérieure à 20 kg de lait), les prélèvements ont été effectués sur 24 heures seulement.

Sur les échantillons proportionnels conservés par addition de toluène, nous avons dosé les matières grasses par la méthode de GERBER et les constituants azotés par celle de KJELDAHL : l'azote caséine a été déter-

GRAPHIQUE I. — Évolution des productions :

— de lait
 --- de matières grasses
 . . . de matières azotées totales
 (moyenne des 26 vaches)

miné par différence entre l'azote total et l'azote du filtrat acétoacétique (ROWLAND 1938). Les prises de lait ont été effectuées avec des pipettes préalablement étalonnées, ce qui a permis d'éliminer les pesées et d'augmenter le débit des analyses.

Présentation des résultats.

Pour établir une courbe moyenne traduisant au mieux l'évolution physiologique de la composition du lait, il faut prendre des vaches au même stade physiologique. Celui-ci ne dépend que du temps écoulé depuis le vêlage tant que les vaches n'ont pas été fécondées, mais est ensuite de plus en plus déterminé par l'état de gestation. C'est pourquoi les résultats des différents auteurs concordent remarquablement pour les premiers mois de lactation, mais divergent ensuite de façon importante, notamment

ceux de NESENI et KORPRICH (1947), par suite de l'inégalité et de l'hétérogénéité des longueurs de lactation.

Or, toutes nos vaches n'ont pas été fécondées au bout du même nombre de jours après le vêlage, certaines (notamment en hiver) ayant exigé plusieurs saillies ; pour ne pas avoir à éliminer ces dernières, nous avons donc reporté tous les résultats à partir de l'entrée en gestation (en moyenne 94 jours après la mise-bas) ; nous avons ainsi scindé la lactation en deux périodes physiologiques : les trois premiers mois d'une part et la gestation d'autre part.

RÉSULTATS

Quantité de lait.

Au cours de la première quinzaine après le vêlage, la production laitière a augmenté rapidement et atteint son palier maximum pour les différents groupes de vaches : 14 kg le 13^e jour pour les génisses Normandes, 17 kg le 8^e jour pour les Normandes en deuxième lactation, 24 kg le 14^e jour pour les Frisonnes en deuxième lactation, 26 kg le 16^e jour pour les Frisonnes plus âgées. La pointe maximum a été atteinte plus tard pour les vaches les plus fortes productrices dépassant 30 kg de lait et traites trois fois par jour, conformément aux observations de TURNER, RAGSDALE et BRODY (1923).

Après un palier de durée variable (graphique 1), la quantité de lait a ensuite diminué de façon sensiblement linéaire, mais plus accentuée à partir du cinquième mois de gestation, en accord avec les résultats classiques (cf. DELAGE, LEROY et POLY 1953) ; ce décrochement est vraisemblablement de nature physiologique, mais a été favorisé, ou accentué, chez un certain nombre de vaches par la rentrée à l'étable qui a dû être effectuée sans transition. Cet accident mis à part, la décroissance régulière de la courbe de lactation nous montre que les vaches ont toujours reçu une ration suffisante et nous permet de penser que nous avons réduit au minimum l'interférence possible du niveau d'alimentation.

Teneur en matières azotées totales.

Courbes moyennes.

La teneur en matières azotées totales a présenté, au cours de la lactation de toutes les vaches, une évolution caractéristique en trois phases, dont le graphique 2 donne la courbe moyenne (en valeur absolue) pour chacune des deux races :

— une phase décroissante. La teneur en matières azotées totales est très élevée une semaine après le vêlage (42 g p. 1.000, soit 115 p. 100 de

la valeur moyenne chez les Normandes — 38,5 g p. 1.000, soit 121 p. 100 chez les Frisonnes), et diminue rapidement au cours du premier mois de lactation suivant une décroissance approximativement hyperbolique : 0,7 g, 0,3 g et 0,1 g par jour en moyenne, au cours de la deuxième, de la troisième et de la quatrième semaine respectivement. Elle atteint sa valeur minimum au cours du deuxième mois de lactation, tout à fait au début chez les Normandes (33,2 g — 92 p. 100 quatre semaines après le vêlage), mais seulement à la fin chez les Frisonnes (28,9 g — 91 p. 100, huit semaines après le vêlage). Cette différence est moins le fait de la race que celui de l'âge, de la saison de vêlage et de l'évolution de la quantité de lait.

— un palier minimum. Quelle que soit la position exacte de la valeur la plus basse, la teneur en matières azotées totales ne présente que de faibles variations au cours du deuxième mois, autour d'un palier minimum légèrement inférieur à 34 g chez les Normandes, à 30 g chez les Frisonnes. Ce palier n'a duré que le deuxième mois chez les Normandes dont le lait a commencé à s'enrichir dès la neuvième semaine après le vêlage ; chez les Frisonnes au contraire, il s'est prolongé presque trois mois, jusqu'à la fin du premier mois de gestation.

— une phase croissante. Le taux de matières azotées a augmenté constamment au cours de la gestation : il a d'abord atteint sa valeur moyenne pondérée au cours des deuxième et troisième mois et s'est élevé au cours des sixième-septième, à des niveaux supérieurs à ceux observés une semaine après le vêlage (plus de 120 p. 100 de la moyenne : 42-45 g chez les Normandes, 37-38 g, chez les Frisonnes). La croissance mensuelle a été relativement faible au cours des quatre premiers mois de gestation (0,75 g pour les deux races), mais beaucoup plus élevée pour les trois derniers (2 g pour les Frisonnes, 3 g pour les Normandes).

Différences individuelles.

Les courbes d'évolution individuelle (cf. JARRIGE et ROSSETTI 1957 b) présentent toutes ces trois phases, mais avec des différences importantes dans leurs paramètres (niveau-durée-pente). Pour traduire la variabilité de ces résultats individuels autour de leur moyenne m , nous avons calculé à chaque stade l'écart type σm de celle-ci et avons construit, autour de la courbe moyenne, les courbes $m + \sigma m$ et $m - \sigma m$ (au lieu de $2\sigma m$ pour éviter les recouvrements). Leur examen (graph. 2) montre que l'écart type σm est 2 à 3 fois plus élevé à la fin de la lactation qu'au milieu où il est minimum ; ainsi, pour les Frisonnes, il a été en moyenne de 0,6 pour les trois premiers mois de lactation, s'est maintenu à un minimum de 0,45 au cours des trois premiers mois de la gestation et a ensuite augmenté à 0,7 pour les trois mois suivants et à plus de 1 pour les six dernières se-

GRAPHIQUE 2. — Évolution de teneurs en matières grasses (m. g.) et matières azotées totales (m. a. t.) au cours de la lactation (moyenne m des valeurs individuelles $\pm \sigma m$)

maines. Il présente la même augmentation chez les Normandes, mais il y est en moyenne plus élevé et plus fluctuant. Cet accroissement de la variabilité au cours de la gestation résulte des différences importantes dans les vitesses individuelles d'enrichissement du lait. Pour les mettre en évidence, nous avons exprimé les teneurs en matières azotées totales, à chaque prélèvement, en pourcentage de la valeur moyenne pondérée de chaque vache. C'est sur ces valeurs en p. 100 que nous avons testé, par la méthode des couples, la signification des différences entre les moyennes des prélèvements successifs :

— les diminutions observées au cours de la 2^e et de la 3^e semaine sont hautement significatives (rapportées à la semaine précédente),

— dans la phase croissante, les prélèvements 12 et 15 présentent une augmentation significative par rapport aux valeurs de la semaine précédente, et les prélèvements 3, 7, 11, 16, 17, 18 par rapport à ceux effectués deux semaines avant.

Distribution de l'azote total.

Rapport caséine/matières azotées totales.

Le rapport caséine /M. a. t. est demeuré remarquablement constant au cours de la lactation de chaque vache dont il paraît être hautement caractéristique (cf. JARRIGE et ROSSETTI, 1956) ; par suite, la moyenne des valeurs individuelles à chaque stade (pour chacune des races ou pour

l'ensemble des vaches) n'a pas varié au cours de la lactation, sauf au cours du dernier mois de la lactation (graph. 3). Elle a atteint sa valeur moyenne de 77,40 (77,5 p. 100 pour les Normandes, 77,3 p. 100 pour les Frisonnes) dès le premier prélèvement, situé une semaine après le vêlage, ce qui montre que la période colostrale a été très courte ; elle est demeurée ensuite très constante, avec quelques faibles fluctuations provenant avant tout d'écarts individuels, ceci jusqu'au dernier mois au cours duquel elle a diminué de façon régulière avec les valeurs hebdomadaires successives de 77,6-76,5-

76,3, 76,2, et 76,0 p. 100. Il est intéressant de noter que cette tendance a été surtout accentuée chez les vaches à faible persistance qui se tarissent d'elles-mêmes. Ce sont avant tout leurs valeurs qui font apparaître, dans l'analyse hiérarchique de la variance des rapports (cf. JARRIGE et ROSSETTI 1957 *b*) une influence significative du stade de lactation. Il n'en reste pas moins que le rapport caséine/matières azotées totales est demeuré très stable au cours de l'ensemble de la lactation, avec un coefficient de variation faible (2,666 p. 100). Par suite, la courbe d'évolution de la teneur en caséine se déduit de celle de la teneur en matières azotées totales par une homothétie

Taux butyreux.

A l'échelle de la lactation (graph. 2), le taux butyreux a présenté l'évolution classique observée notamment par Van SLYKE (1908), ECKLES et SHAW (1913), TURNER (1928) et KORKMAN (1950). Il a diminué très rapidement, de 6 à 7 points en moyenne, au cours du premier mois, jusqu'à un minimum de 38,5 g (89 p. 100 de la moyenne) à la 3^e-4^e semaine chez les Normandes, de 31 g (88 p. 100 de la moyenne) à la 5^e chez les Frisonnes. Il a ensuite augmenté dans l'ensemble jusqu'à la fin de la lactation, pour atteindre au cours des deux derniers mois des valeurs de l'ordre de 39 g chez les Frisonnes et de 50 g chez les Normandes, respectivement supérieures de 27 p. 100 et 28 p. 100 au minimum de la fin du premier mois.

Cette courbe moyenne est affectée d'un écart type élevé (en gros 2 fois plus que pour la teneur en matières azotées) et de nombreuses irrégularités qui, tous deux, traduisent les grandes différences des courbes individuelles. Chez un même animal, le taux butyreux est beaucoup moins déterminé que la teneur en protéines et présente des fluctuations importantes, journalières ou périodiques. Nous avons réduit en partie les premières en faisant des prélèvements sur 48 heures, mais non les secondes qui peuvent relever de l'individu, de facteurs physiologiques, de la quantité de lait, du climat et des variations qualitatives et quantitatives de l'alimentation. Nos deux courbes moyennes n'indiquent donc que des tendances générales, mais dégagent cependant deux faits intéressants : d'abord, que le lait des Normandes, à taux butyreux élevé, s'enrichit plus rapidement que celui des Frisonnes, à faible taux butyreux, ce qui est en accord avec les résultats de KORKMAN (1950) ; ensuite, que le taux butyreux des Frisonnes vélées de février à avril présente une dépression estivale de juin-juillet.

Rapport matières azotées totales-taux butyreux.

Les teneurs en matières grasses et matières azotées évoluent en moyenne dans le même sens au cours de la lactation ; pour comparer leurs rythmes d'évolution, il suffit d'étudier les variations du rapport

$\frac{\text{matières azotées totales}}{\text{matières grasses}}$ dont le graphique 4 donne la moyenne des valeurs individuelles pour chaque race. Malgré certaines irrégularités dues principalement aux écarts du taux butyreux, le rapport évolue de façon semblable dans les deux races :

- il diminue nettement au cours des deux premiers mois, de 103 p. 100 à 89 p. 100 chez les Frisonnes, de 97 à 80-82 p. 100 chez les Normandes ;
- il présente une relative stabilité pendant les cinq premiers mois de

GRAPHIQUE 4. — Évolution du rapport $\frac{\text{matières azotées}}{\text{matières grasses}} \times 100$ au cours de la lactation

gestation, autour de 93 p. 100 pour les Frisonnes, de 83 p. 100 pour les Normandes ;

- il augmente de façon assez irrégulière au cours des deux derniers mois pour atteindre 98 p. 100 chez les Frisonnes, 87 p. 100 chez les Normandes.

Ainsi, les teneurs en matières azotées et matières grasses ont évolué à une vitesse sensiblement égale pendant la partie moyenne de la lactation, mais nettement différente aux deux extrémités :

- le taux butyreux est relativement moins élevé à la fin de la première semaine (108 p. 100 de la moyenne pondérée contre 118 p. 100), diminue moins rapidement, atteint son minimum plus tôt et augmente au cours du deuxième mois alors que la teneur en matières azotées diminue encore légèrement ;

- en fin de lactation, la teneur en matières azotées augmente relativement plus vite que le taux butyreux, qui atteint cependant des valeurs nettement plus élevées qu'une semaine après le vêlage.

Production de matières grasses et de matières azotées.

Le graphique 1 met en évidence un fait très important : la production de matières grasses et de matières azotées est maximum au vêlage, grâce à une production laitière qui approche son maximum, associée à

une teneur encore très élevée du lait. Ceci est valable pour toutes les catégories de vaches, indépendamment de leur niveau de production, sauf pour les animaux en première lactation qui n'ont atteint leur production maximum de matières azotées que cinq semaines après le vêlage.

Les quantités de matières grasses et de matières azotées présentent ainsi une diminution constante, due pendant les cinq premières semaines à l'appauvrissement du lait et, ensuite, à la décroissance de la production laitière. Cette diminution n'est pas très régulière au cours des 2^e et 3^e mois de lactation et du premier mois de gestation, parce qu'elle ne dépend pratiquement que de la quantité de lait. Elle le devient ensuite beaucoup plus, notamment pour les matières azotées, et peut être schématiquement représentée par deux droites qui se raccordent à la fin du 4^e mois de gestation et dont la dernière a une pente sensiblement plus forte.

Au cours de la gestation, la production de matières azotées diminue donc avec la quantité de lait, mais moins vite parce que le lait s'enrichit. C'est ce que traduit le graphique 1, dans lequel nous avons fait coïncider les points représentatifs des deux productions (lait et matières azotées) à la saillie.

Relations entre la teneur en matières azotées et la quantité de lait.

Après avoir réparti les teneurs en matières azotées totales par classe de production laitière (intervalle 1 kg), ceci à l'intérieur de chaque race ; nous avons calculé les moyennes de chaque classe, ainsi que leur écart type et avons reporté ces valeurs sur le graphique 5. On constate immédiatement que la teneur en protéines augmente quand la quantité de lait diminue, surtout lorsqu'elle prend des valeurs faibles, en fin de lactation. Cette courbe ne fait que traduire l'évolution globale inverse des deux variables au cours de la lactation, mais il ne faut pas en déduire qu'il y a une liaison négative à chaque stade.

Celle-ci est fortement négative pendant les trois-quatre premières semaines de lactation, lorsque la quantité de lait augmente de façon continue, alors que la teneur chute constamment. Ensuite, jusqu'au début de la gestation, les deux variables évoluent de façon à peu près indépendante, comme le montre le graphique 5 : la teneur ne varie pratiquement pas pour des productions allant de 17 à 30 kg de lait. Pour faire une étude statistique de ces relations, nous avons besoin d'un ensemble de lactations comparables, notamment, du point de vue de la quantité de lait : aussi nous n'avons analysé que les résultats des vaches Frisonnes à partir de la saillie ; nous avons divisé la gestation en 4 tranches de deux mois et calculé, dans chacune d'elles, les coefficients de corrélation et la droite de régression entre teneur en matières azotées (y) et quantité de lait (x) tableau IV,.

Le coefficient de régression n'est pas significativement différent de 0 au cours des 4 premiers mois de gestation, le devient au cours des 5^e et 6^e mois (seuil 1 p. 100) et présente, au cours de la dernière tranche, une

TABLEAU IV

Relations entre la teneur en matières azotées totales (y) et la quantité de lait (x) au cours de la gestation des vaches Frisonnes.

Période gestation	Nombre d'échantillons	Coefficient de corrélation	Coefficient de régression	Droite de régression
1 — 60 j.....	69	— 0,070	— 0,146	$y = - 0,146x + 32,55$
61 — 120 j.....	56	+ 0,086	+ 0,056	$y = + 0,056x + 30,83$
121 — 160 j.....	83	— 0,410 ^{xx}	— 0,412 ^{xx}	$y = - 0,412x + 38,72$
> 181 j.....	77	— 0,632 ^{xx}	— 0,895 ^{xx}	$y = - 0,895x + 41,98$

GRAPHIQUE 5. — Relation entre la teneur en matières azotées totales et la quantité de lait (moyenne $\pm$ 5m)

valeur fortement négative significativement plus élevée que la précédente. Pour l'ensemble de nos Frisonnes, la quantité et la composition du lait évoluent donc de façon indépendante au cours des quatre premiers mois

de gestation, avant tout parce que l'augmentation de la teneur en matières azotées totales est, en moyenne, faible et variable avec les vaches. Avec le 5^e mois de gestation (ou la fin du 4^e) apparaît une liaison fortement négative qui fait que la diminution de la quantité de lait s'accompagne en moyenne d'une augmentation de la teneur en matières azotées totales, augmentation d'autant plus forte et plus nécessaire qu'on se rapproche du tarissement.

Il y a donc, vers le milieu de la gestation, une modification des relations entre teneur et quantité de lait ; avant de l'interpréter, il faut souligner les limites de la méthode qui a permis de la mettre en évidence : elles tiennent au fait que nous avons comparé d'abord des périodes ayant des limites différentes (une diminution de 1 kg de lait représente 5 à 6 p. 100 de la production moyenne de la première tranche et près de 20 p. 100 dans la dernière) et utilisé ensuite un échantillon encore relativement hétérogène. C'est pourquoi nous n'avons pas pu l'appliquer aux vaches Normandes, dont les productions et les courbes d'évolution étaient trop différentes. Pour éliminer ces principales interférences, il faudrait étudier les relations quantité-teneur chez le même animal, à l'aide des régressions partielles : teneur en fonction de la quantité de lait et du nombre de jours écoulés depuis le vêlage ou la saillie.

DISCUSSION

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus antérieurement sur des animaux de races différentes et dans des conditions de milieu aussi diverses que celles des États-Unis, de la Scandinavie ou de l'Allemagne ; ils sont d'autre part sensiblement reproductibles au cours de deux lactations successives d'un même groupe d'animaux. La teneur en protéines et, plus généralement, la composition du lait présentent donc, au cours de la lactation, une évolution de nature physiologique dont l'orientation est, en grande partie, indépendante de la race et du milieu. Il importe d'en dégager les conséquences et la signification, mais il faut auparavant examiner les causes des variations autour de cette courbe moyenne.

Modifications de la courbe d'évolution.

Toutes les courbes individuelles que nous analyserons ultérieurement présentent les trois phases caractéristiques : appauvrissement — palier minimum — enrichissement, mais avec des paramètres différents (niveau — durée — pente). Ces variations doivent être en majeure partie caractéristiques de l'individu, mais peuvent également résulter en partie de l'âge, de l'alimentation, des facteurs climatiques et de la saison de vêlage.

Pour étudier correctement l'influence de l'âge, il faut comparer les

lactations successives des mêmes vaches, réalisées si possible dans les mêmes conditions, comme l'a fait KORKMAN (1950) pour le taux butyreux. Pour 9 vaches dont nous avons suivi la première lactation, nous avons constaté que celle-ci présentait une phase d'appauvrissement plus accentué, un palier minimum plus court et une phase d'enrichissement plus rapide : la teneur en matières azotées a été inférieure pendant les deux premiers mois, et plus élevée ensuite qu'à la deuxième lactation. Il est possible que la mise en route de la première lactation s'effectue de façon caractéristique, puisque KORKMAN (1950) trouve les mêmes différences pour le taux butyreux, mais on ne peut les interpréter qu'en tenant compte de l'évolution de la quantité de lait et des autres composants (lactose).

Nous n'avons pas assez d'animaux pour dégager et chiffrer l'influence des facteurs externes sur les différentes phases de l'évolution. D'une façon générale, la teneur en protéines y serait relativement sensible, mais répondrait avec une amplitude faible : elle est par exemple augmentée temporairement par la mise à l'herbe (JARRIGE 1953) ou diminuée de façon plus prolongée par la sous-alimentation énergétique (ROWLAND 1946) ou la sécheresse de l'été (RIDDET et al. 1941). Les variations du niveau d'alimentation et de la composition du régime, associées à une action directe possible des facteurs climatiques, peuvent donc modifier dans le détail les courbes d'évolution, et ceci, de façon différente suivant le stade de lactation auquel elles interviennent, donc avec la saison de vêlage. PIEL (1953) constate ainsi que, chez les vaches vêlant en automne, la teneur en matières azotées présente une diminution rapide à partir du vêlage, un palier minimum étroit et une augmentation régulière très accentuée en fin de lactation ; au contraire, chez les vaches vêlant au printemps, la phase d'appauvrissement et surtout le palier minimum sont beaucoup plus longs. Nos courbes individuelles classées par date de vêlage (cf. JARRIGE et ROSSETTI 1957 *b*) nous montrent les mêmes tendances, notamment, la prolongation du palier minimum dans les lactations de printemps, qui pourrait ici résulter d'une action directe défavorable des conditions climatiques (chaleur...) et de la composition de l'herbe ; celle-ci est renforcée par une sous-alimentation en cas de sécheresse et peut entraîner une profonde dépression de la teneur en protéines (RIDDET et al. 1941) qui rend compte en majeure partie de la classique chute de l'extrait sec dégraissé à la mi-été, très bien mise en évidence par EYRARD, HUREL et BOISSEAU (1946) pour les laits de la région parisienne.

Ainsi, cette étude préliminaire nous a simplement permis de dégager l'orientation nécessaire de l'évolution physiologique de la teneur en constituants azotés et de lui donner une base quantitative provisoire, valable pour les vaches Normandes et Frisonnes dans les conditions de la région parisienne. Il nous reste à étudier ses modifications en fonction de la race, de l'âge et des facteurs externes : pour mettre en évidence l'influence di-

recte de ces derniers, la période qui va du 2^e au 6^e mois de lactation est la plus favorable, car en moyenne la teneur évolue de façon indépendante de la quantité de lait.

Conséquences de cette évolution.

1. — La richesse et la valeur nutritive des laits individuels dépend avant tout du stade de lactation : ceux des deux derniers mois contiennent en moyenne 28 p. 100 de protéines, 29 p. 100 de matières grasses et 24 p. 100 de constituants fromagers (matières grasses + caséine) de plus que ceux du deuxième mois, qui sont les plus pauvres (graph. 6). Ces varia-

GRAPHIQUE 6. — Évolution de la somme matières grasses + caséine au cours de la lactation

tions sont considérablement amorties dans les laits de mélange, notamment ceux destinés à la consommation des grandes villes, parce qu'ils sont produits dans les régions de plaine où les vèlages sont répartis tout au long de l'année. Elles expliquent par contre le cycle annuel du rendement en fromagerie des laits des régions spécifiquement fromagères, où les vèlages sont traditionnellement groupés : en novembre-décembre dans le Jura, en février-mars dans le Cantal. AURIOL et MOCQUOT (1956) constatent par exemple que le rendement en gruyère de Comté augmente de 15 p. 100 entre son minimum de février (8,3 kg de fromage pour 100 kg de lait) et son maximum de septembre-octobre (9,6 kg p. 100), dans une

fromagerie du Haut-Jura : cette évolution est sensiblement parallèle à celle de la teneur en matières azotées totales (de 29, 5 g p. 100 à 34 g) des laits fournis par 5 étables parfaitement représentatives.

2. — L'évolution de la composition du lait au cours de la lactation entraîne une variation des besoins de production correspondants (par kg de lait), qu'on exprime classiquement en fonction du taux butyreux depuis les travaux de NILS HANSSON (1913) en Suède. On obtient ainsi une très bonne estimation du besoin énergétique, car la valeur calorifique du lait est étroitement liée à la teneur en matières grasses. Par contre, celle des besoins azotés, beaucoup plus approximative (cf. ROSSETTI et JARRIGE 1957), repose sur le fait que les teneurs en protéines et en matières grasses évoluent de façon semblable au cours de la lactation et varient en moyenne dans le même sens d'un individu à l'autre. Toutes les normes classiques que nous avons représentées au graphique 7 admettent donc que le besoin azoté augmente avec le taux butyreux.

Elles divergent :

— sur l'unité de mesure : matières azotées digestibles-équivalents protéiques-protéine vraie ; dans l'état actuel de nos connaissances sur les constituants azotés des fourrages et sur leur utilisation digestive (rumen), il semble plus sage de s'en tenir aux matières azotées digestibles ($N \times 6,25 \times$ coefficient de digestibilité apparente), dont l'estimation est à la fois la plus simple et la moins artificielle ;

— sur les coefficients de sécurité : le besoin azoté par kg de lait 4 p. 100 varie ainsi de 41 g de matières azotées digestibles, norme minimum récente de MORRISON, à 67 g de protéines digestibles préconisés par KELLNER un demi-siècle plus tôt. D'une façon générale, la marge de sécurité est d'autant plus réduite que les normes sont plus récentes.

En effet, les nombreuses expériences (essais d'alimentation ou bilans) réalisées en Allemagne, en Scandinavie et, surtout, aux U. S. A. ont montré que l'azote digestible était remarquablement utilisé pour la production laitière, dans une proportion allant parfois jusqu'à 100 p. 100 dans les essais de courte durée (cf. revues de HALNAN (1929) — MOLLGAARD (1931) — MORRIS (1936). C'est pourquoi les spécialistes américains du National Research Council ont proposé une norme qui apporte aux vaches, en plus de leur besoin d'entretien, une quantité de matières azotées digestibles égale à 1,35 fois la quantité de matières azotées totales du lait, ce qui correspond à un coefficient d'utilisation de 75 p. 100. Il serait pour l'instant imprudent de vulgariser ces normes en Europe, car elles correspondent aux rations américaines riches en concentrés dont les matières azotées sont essentiellement des protéines, très bien utilisées par la mamelle. Pour les rations européennes, on ne peut guère espérer dépasser pratiquement un coefficient d'utilisation de 70 p. 100 des matières azotées digestibles, si on ne veut pas risquer de nuire à la longue à la santé de la vache,

conclut MOLLGAARD, suivi par HALNAN et MORRIS. En adoptant une valeur de 65 p. 100 pour tenir compte des valeurs individuelles supérieures à la moyenne, nous avons estimé les besoins azotés aux différents mois de lactation à partir des teneurs moyennes en matières azotées totales :

$$\left. \begin{array}{l} \text{besoin par kg de lait en} \\ \text{matières azotées digestibles} \end{array} \right\} = \frac{100}{65} \times \left\{ \begin{array}{l} \text{teneur en matières} \\ \text{azotées totales.} \end{array} \right.$$

TABLEAU V

*Evolution des besoins azotés (matières azotées digestibles)
au cours de la lactation.*

Mois de lactation	par kg de lait		par kg de lait 4 %		par U. F. moyenne
	Frissonnes	Normandes	Frissonnes	Normandes	
1 ^{er} mois	51,4	56,1	56,4	55,6	147
2 ^e »	45,7	51,8	51,3	51,7	135
3 ^e »	46,0	53,0	50,8	51,6	135
4 ^e »	45,8	54,0	51,6	52,0	136
5 ^e »	46,5	55,1	52,7	51,4	137
6 ^e »	47,9	56,0	53,3	52,4	139
7 ^e »	49,4	57,3	53,4	52,5	139
8 ^e »	51,2	59,3	54,4	53,9	142
9 ^e »	55,2	62,4	56,4	56,0	148
10 ^e »	57,9	67,7	58,4	58,6	154

Le besoin par kg de lait varie ainsi très largement de 45-46 g du 2^e au 5^e mois chez les Frissonnes, à 68 g au dernier mois chez les Normandes. Cette évolution s'atténue si nous rapportons le besoin azoté au besoin calorifique en l'exprimant par kg de lait 4 p. 100 : les valeurs, pratiquement identiques pour les deux races, demeurent très constantes du 2^e au 7^e mois de lactation (51 à 53 g soit 135-140 g par U. F.), mais sont nettement plus élevées au premier et aux deux derniers mois (55 à 58 g soit 145-155 g par U. F.). En retenant le chiffre moyen de 55 g de matières azotées digestibles par kg de lait 4 p. 100 (soit 140 g par U. F.), nous conservons une marge de sécurité suffisante pour couvrir les besoins des individus produisant un lait riche en matières azotées relativement au taux butyreux. D'ailleurs, au cours de 3 expériences portant respectivement sur 500, 600 et 300 vaches, BARTLETT et al. (1940) n'ont constaté aucune différence de production laitière en réduisant l'apport azoté à 40 g d'équivalents protéiques par kg de lait 3,7 p. 100 (contre 60 g aux animaux témoins). De même, ULVESLI (1949) n'a observé qu'une décroissance de la production laitière « quelque peu plus accentuée » chez les vaches recevant 37 à 47 g de matières azotées digestibles (par kg de lait 4 p. 100) par rapport à celles en recevant 54-62 g ; il conclut : « Les besoins optimum semblent être couverts quand on apporte 55-60 g de matières azotées digestibles par kg de lait 4 p. 100 dans la ration de production ; les besoins minimum peuvent être fixés à 45-50 g et peut-être à 40-45 g. »

De cette valeur de base de 55 g de matières azotées digestibles par kg de lait 4 p. 100, nous pouvons déduire les besoins azotés approximatifs correspondant aux autres taux butyreux ; nous obtenons des valeurs à

GRAPHIQUE 7. — Normes des besoins azotés pour la production d'un kg de lait en fonction de sa teneur en matières grasses.

mi-chemin entre les normes préconisées dans les conditions normales d'exploitation, par BREIREM et par MORRISON :

Taux butyreux ‰	Besoins azotés m. a. d./kg lait	Normes de BREIREM		Normes de MORRISON	
		minimum	optimum	minimum	normales
30.....	47	38	51	36	43
35.....	51	42	56	38	46
40.....	55	45	60	41	49
45.....	59	48	65	44	52
50.....	63	52	69	46	56
55.....	67			49	59

Ces valeurs provisoires reposent sur un nombre de résultats trop limité et sur plusieurs hypothèses, mais elles essayent de rendre compte

des variations des besoins azotés avec l'individu et le stade de lactation, ce qui ne fait pas la norme vulgarisée en France (60 g d'équivalents protéiques par kg de lait indépendamment de sa composition). Celle-ci doit être insuffisante pour les Normandes en fin de lactation mais conduit, par contre, à un gaspillage certain de protéines chez les vaches à faible taux butyreux, notamment la majorité des Frisonnes en pleine lactation. Nous conserverons pour l'instant la norme de 60 g de matières azotées digestibles par kg de lait 4 % soit 150 g par u. f., d'autant plus que les teneurs en matières azotées sont souvent surestimées : la valeur conventionnelle de 6,25 universellement employée pour convertir l'azote en matières azotées totales, est en effet trop élevée pour les fourrages et, naturellement, pour les aliments riches en constituants non protéiques (racines). Il serait souhaitable de déterminer avec précision ces facteurs de conversion et d'adopter ensuite des normes moins libérales.

Essai d'interprétation physiologique.

Envisagées à l'échelle de la lactation, les modifications physiologiques de la teneur en matières azotées proviennent d'une évolution différente des deux sécrétions, de matières azotées et de lait. Celles-ci ont divergé de façon importante au cours du premier et des quatre derniers mois de lactation de nos animaux :

— la sécrétion de protéines a été maximum au vêlage et n'a cessé de diminuer, alors que la quantité de lait augmentait pendant 2 à 3 semaines, à une vitesse plus faible. Ceci détermine une diminution rapide de la teneur en matières azotées et montre que la sécrétion de protéines (pas plus que celle de matières grasses) n'a pas été le facteur limitant de la production laitière dans cette période. Toutes les vaches, sauf celles en première lactation, ont présenté cette évolution dont il faut cependant souligner qu'elle peut être liée en partie au niveau d'alimentation relativement élevé maintenu pendant la période de tarissement ;

— au cours de la gestation, la quantité de lait diminue plus vite que celle de matières azotées (cf. graph. 1) ; faible pendant les trois premiers mois, la différence s'accroît à partir de la fin du 4^e, parce que la quantité d'eau présente alors une décroissance plus rapide, en accord avec les résultats de DELAGE, LEROY et POLY (1953). Il en résulte une augmentation croissante de la concentration en matières azotées qui ressort de l'étude des relations statistiques entre celle-ci et la quantité de lait (tableau IV) ; alors que leur liaison est pratiquement nulle pendant les 1^{er}-2^e et 3^e-4^e mois de gestation, elle devient ensuite de plus en plus négative (coefficients de corrélation de — 0,41 au cours des 5^e-6^e mois et — 0,895 au 7^e-8^e) ; contrairement à ce qui se passait au début de la gestation (et dans le mois la précédent), la diminution de la quantité de lait entraîne

une augmentation de la teneur en protéines de plus en plus accentuée quand on se rapproche du tarissement.

Nous pourrions appliquer le même raisonnement au taux butyreux, ce qui nous amène à penser que, tout au moins dans les deux périodes où nous pouvons dissocier l'évolution des différentes sécrétions de la mamelle :

— les sécrétions de protéines et de matières grasses ne sont pas les facteurs limitants de la quantité de lait, c'est-à-dire, finalement, d'eau produite ;

— les variations des teneurs en ces constituants sont en partie passives et traduisent la dilution de la quantité sécrétée par une quantité d'eau variable.

Dans ces conditions, qu'est-ce qui contrôle et fait varier la quantité d'eau ? Ce serait la sécrétion de lactose, selon TAYLOR et HUSBAND (1923) et BRODY (1945). Nous n'avons malheureusement pas dosé ce constituant, mais toutes les études montrent, de façon absolument concordante, qu'il présente une évolution caractéristique, inverse de celle des matières grasses ou azotées. Il augmente pendant les premières semaines, jusqu'à un maximum au début du 2^e mois de lactation puis diminue ensuite constamment à un rythme très lent qui s'accroît cependant dans les derniers mois. Or, il a une activité osmotique beaucoup plus élevée que les protéines et les matières grasses et entraînerait le passage dans le lait de 18 kg d'eau par kg (BRODY 1945).

Par l'intermédiaire de la quantité d'eau, la sécrétion de lactose, qui augmente pendant le premier mois de lactation, puis diminue ensuite régulièrement, pourrait donc déterminer l'évolution classique de la quantité de lait d'une part, de la concentration en matières grasses et azotées d'autre part.

Il s'agit alors de savoir pourquoi la sécrétion de lactose évolue différemment de celle des protéines et lipides, notamment au cours de la gestation. Comme ce sont les mêmes cellules qui sécrètent tous ces constituants, il faut en déduire que leur activité se modifie progressivement et qu'elles sécrètent relativement moins de lactose et plus de protéines et de lipides : ce fait apparaît très nettement si on rapporte les teneurs, non au kg de lait, mais à la somme matières grasses + matières azotées + lactose, qui représente au mieux le produit synthétisé (JARRIGE 1956). Nous aboutissons ainsi à deux problèmes très généraux : à savoir les causes et les mécanismes de ces modifications de l'activité des cellules.

Nos résultats, et plus spécialement l'étude des relations lait-teneur, nous montrent simplement que la « situation physiologique » change vers la fin du 4^e mois de lactation, ce qui est en accord avec l'ensemble des études sur l'évolution de la quantité de lait (cf. DELAGE, LEROY et POLY) et les observations de BAILEY (1952) sur celle de l'extrait sec dégraissé.

On peut supposer, avec ces auteurs, que ce changement est déterminé par une modification des équilibres hormonaux associée au développement rapide du fœtus : à la suite de NIBLER et TURNER (1929), de nombreux travaux ont par exemple montré que l'activité œstrogénique de l'urine de vache, très faible pendant les cent premiers jours de gestation, augmente ensuite de façon continue jusqu'à la parturition. On pourrait concevoir, à la limite, que l'équilibre hormonal contrôle directement la synthèse du lactose dans les cellules sécrétrices, laquelle déterminerait la quantité d'eau exportée et, par là, la dilution des autres constituants.

Ainsi, l'analyse des courbes moyennes nous a permis de poser un certain nombre d'hypothèses sur les mécanismes de la sécrétion lactée ; il faut les tester à l'échelle individuelle en analysant un grand nombre d'échantillons de lait au cours de la lactation d'un même animal. C'est ce que nous faisons dans un travail en cours (analyses journalières), mais nous avons tenu à formuler ces hypothèses de travail pour montrer que l'étude systématique des variations de la composition du lait doit nous permettre d'éclairer la physiologie de la sécrétion : il ne faut donc pas les ignorer dans ce dernier cadre, pas plus qu'il ne faut rester prisonnier des analyses sans chercher à les interpréter.

RÉSUMÉ

1. — Nous avons étudié l'évolution de la teneur des laits individuels en matières grasses, matières azotées totales et caséine au cours de la lactation de 28 vaches (tableau I), à partir d'environ 30 prélèvements par animal : un par semaine au cours des deux premiers et des deux derniers mois et un par quinzaine dans l'intervalle.

2. — La teneur en matières azotées totales a diminué rapidement jusqu'au deuxième mois de lactation, où elle a atteint son minimum (33-34 g p. 1 000 chez les Normandes, 29-30 g p. 1 000 chez les Frisonnes), autour duquel elle a fluctué pendant un temps variable. Elle a augmenté ensuite d'environ 1 g p. 1 000 par mois, mais plus rapidement à partir du cinquième mois de gestation (graph. 2).

3. — Le rapport caséine/matières azotées totales est demeuré remarquablement constant (moyenne 77,4 p. 100) jusqu'au dernier mois au cours duquel il a diminué jusqu'à 76 p. 100 (graph. 3).

4. — Le taux butyreux a évolué dans le même sens que la teneur en matières azotées, mais de façon beaucoup plus irrégulière ; en moyenne, le rapport $\frac{\text{matières azotées totales}}{\text{matières grasses}}$ a diminué au cours des deux premiers mois puis est resté sensiblement constant ensuite jusqu'aux deux derniers mois au cours desquels il a augmenté (graph. 4).

5. — Les laits des deux derniers mois ont contenu en moyenne 28 p. 100 de matières azotées, 29 p. 100 de matières grasses et 24 p. 100 de constituants fromagers (matières grasses + caséine) que ceux du deuxième mois, qui sont les plus pauvres (graph. 6).

6. — La liaison entre la quantité de lait et la teneur en matières azotées a varié au cours de la lactation ; fortement négative pendant le premier mois, elle est demeurée ensuite pratiquement nulle jusqu'au quatrième mois de gestation, puis est devenue de plus en plus négative (graph. 5).

7. — Nous avons essayé d'interpréter ces variations nécessaires de la composition du lait et montré que, en moyenne, la sécrétion de matières azotées (et sans doute de matières grasses) ne limite pas la quantité de lait produite, ni au vêlage où elle est directement maximum, ni au cours de la gestation (graph. 1).

Reçu pour publication le 17 octobre 1956.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AURIOL (P.), MOCQUOT (G.) (1956). — *Annales de Zootechnie* (en cours de publication).
- AZARME (R.) (1938). — *J. Dairy Res.*, **9**, 121.
- BAILEY (G. L.) (1952). — *J. Dairy Res.*, **19**, 102.
- BARTLETT (S.), FOOT (A. S.), HUTHNANCE (S. L.), MACKINTOSH (J.) (1940). — *J. Dairy Res.*, **11**, 121.
- BECKER (G.) (1934). — Dissertation Hanovre.
- BONNIER (G.), HANSSON (A.), JARL (F.) (1946). — *Acta Agr. Suecana*, **2**, 159.
- BRODY (S.) (1945). — *Bioenergetics and Growth*, Reinhold.
- Committee on Animal Nutrition (1950). — Recommended nutrient allowances for dairy cattle (N. R. C.).
- COMBERG (G.) (1951). — *Kühn Archiv*, **64**, 301.
- DELAGE (J.), LEROY (A. M.), POLY (J.) (1953). — *Annales de Zootechnie*, **2**, 225.
- ECKLES (C. H.), SHAW (R. H.) (1913). — Cités par McDOWALL (1936).
- EYRARD (A.), HUREL (C.), BOISSEAU (M.) (1946). — *C. R. Acad. Agric.*, **32**, 176.
- GRABISCH (W.) (1953). — *Züchtungskunde*, **24**, 121.
- HALNAN (E. T.) (1929). — *J. Dairy Res.*, **1**, 1.
- JARRIGE (R.) (1953). — *Annales de Zootechnie*, **2**, 33.
- JARRIGE (R.) (1956). — Rapport au VII^e Congrès International de Zootechnie, Madrid.
- JARRIGE (R.), ROSSETTI (C.) (1957 b). — *Annales de Zootechnie* **6**, 64.
- KORKMAN (N.) (1950). — *Ztschr. Tierzücht ZüchtBiol.*, **59**, 98.
- LARSSON (E. L.), PLATON (J. B.), THOME (K. E.), HANSSON (A.) (1949). — 12^e Congrès Intern. Laiterie, Stockholm, **1**, 377.
- LEMVIGH (H.) (1931). — Dissertation Hanovre.
- LEYDOLPH (W.), ULRICH (A.) (1952). — *Milchwissenschaft*, **7**, 328.
- LONKA (T.) (1947). — *Maataloust. Aikakausk.*, **19**, 8.
- McDOWALL (F. H.) (1936). — *N. Z. J. Sci. Techn.*, **17**, 137.
- MOLLGAARD (H.) (1931). — Grundzuge der Ernährungsphysiologie der Haustiere (Berlin).
- MORRISON (F. B.). — Feeds and Feeding (Morrison Pub. Co.).
- NESENI (R.), KORPRICH (H.) (1947). — *Milchwissenschaft*, **2**, 389, 405.

- NIBLER (C. W.), TURNER (C. W.) (1929). — *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.*, **26**, 882.
MORRIS (S.) (1930). — *Nutr. Abst. Rev.*, **6**, 273.
PIEL (H.) (1953). — *Züchtungskunde*, **24**, 266.
PRESSLER (H.) (1937). — Dissertation Bonn.
RIDDET (W.), CAMPBELL (L. L.), McDOWALL (F. H.), COW (G. A.) (1941). — *N. Z. J. Sci. Techn.*, **23** (A), 80, 99.
ROSSETTI (C.), JARRIGE (R.) (1957). — *Annales de Zootechnie* (sous presse).
ROWLAND (S. J.) (1938). — *J. Dairy Res.*, **9**, 47.
ROWLAND (S. J.) (1946). — *Dairy Industries*, **11**, 656.
TAYLOR (W.), HUSBAND (A. D.) (1923). — *J. Agric. Sci.*, **12**.
TURNER (C. W.) (1928). — *Mo Agr. Exp. Sta. Bull.*, 222.
TURNER (C. W.), RAGSDALE (A. C.), BRODY (S.) (1923). — *J. Dairy Sci.*, **6**, 527.
VAN SLYKE (L. L.) (1908). — *J. Amer. Chem. Soc.*, **30**, 1166.
ULVESLI (O.) (1949). — *Norges Landbruk. Foringsforsok*, **65** Beretn.
-