



HAL
open science

CHROMATOGRAPHIE DES PROTEINES DU LACTOSERUM DE BREBIS

J. L. Maubois, C. Bouillanne, Barbara Nistchke

► **To cite this version:**

J. L. Maubois, C. Bouillanne, Barbara Nistchke. CHROMATOGRAPHIE DES PROTEINES DU LACTOSERUM DE BREBIS. *Le Lait*, 1966, 46 (451_452), pp.39-50. <hal-00928402>

HAL Id: hal-00928402

<https://hal.science/hal-00928402v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

beaucoup plus élevées pouvant atteindre 3 à 4 pCi/litre. Il s'agit là, cependant, de teneurs extrêmement faibles puisque un picocurie de ^{226}Ra représente une masse de un millionième de microgramme.

Afin de mieux préciser la relation qui s'établit entre le lait et le sol, nous poursuivons cette étude en cherchant à déterminer quel est l'aliment qui apporte le radium, et nous avons entrepris un inventaire des teneurs en ^{226}Ra des eaux et des fourrages consommés par les bovins dans ces différentes régions.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] JEANMAIRE L., JAMMET H. — Analyses radiotoxicologiques urinaires. *Ann. Radiol.*, 1959, II, 9-10, p. 703-722.
- [2] De DREUILLE M. — Contribution à l'étude de la radioactivité naturelle du lait. Thèse Doctorat Vétérinaire, Lyon 1964.
- [3] LUCAS H. F. — Improved low level alpha scintillation counter for radon. *Rev. Scient. Inst.* 1957, 18-9, p. 680-683.
- [4] RUSHING D. R., GARCIA W. J., CLARK D. A. — The analysis of effluents and environmental samples from uranium mills and of biological samples for radium, polonium and uranium. in *Radiological Health and Safety in Mining and Milling of Nuclear Materials* vol. 2, p. 187-230. *International Atomic Energy Agency*, Vienne, 1964.

CHROMATOGRAPHIE DES PROTEINES DU LACTOSERUM DE BREBIS ⁽¹⁾

par

J. L. MAUBOIS ⁽²⁾

avec la collaboration technique
de C. BOUILLANNE et de Barbara NISTCHKE

*Station centrale de Recherches laitières
et de Technologie des Produits animaux,
Centre national de Recherches zootechniques,
Jouy-en-Josas (Seine-et-Oise)*

Sommaire

La séparation des protéines du lactosérum de brebis sur colonne de D.E.A.E.-cellulose a été étudiée. Douze fractions peuvent être décelées. Leur homogénéité a été étudiée par électrophorèse sur papier. Cette dernière technique, complétée par la spectrophoto-

(1) *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 1964, 4 (3) 295-305.

(2) Adresse actuelle : Laboratoire de Recherches de Technologie Laitière, Centre de Recherches agronomiques de l'Ouest, Rennes, France.

métrie en UV et la recherche des anticorps agglutinants et antitoxiques, a permis l'identification des pics correspondant à la lactoperoxydase, aux immuno-globulines, à la β -lactoglobuline et à la sérum-albumine. La séparation de constituants à base d'uridine et de guanine, non dialysables, a été obtenue par filtration sur Sephadex G 100.

Introduction

Peu d'études analytiques ont été consacrées aux protéines du lait de brebis. *Deutsch* (1947) par électrophorèse selon *Tiselius* décèle huit constituants dont il donne les mobilités. *Dilanyan et Agababyan* (1962) séparent et dosent 4 fractions seulement par électrophorèse sur papier. *Ravaioli et Giovenali* (1961) observent des différences de mobilités électrophorétiques entre les protéines du lactosérum de vache et celles du lactosérum de brebis et notent chez la brebis, l'importance relative d'un constituant qui, à lui seul, représente 73 p. 100 des protéines du lactosérum.

Notre travail avait pour but de mettre au point une technique de fractionnement et de dosage des immuno-globulines qui soit à même de confirmer les résultats obtenus par *Plommet* (1964) sur la synthèse des anticorps dans la mamelle. Nous avons été conduits à étudier les protéines du lactosérum de brebis à l'aide d'une méthode de séparation différente de l'électrophorèse (sur papier ou selon *Tiselius*), la chromatographie sur échangeurs d'ions.

L'homogénéité des pics isolés par chromatographie sur colonne de D.E.A.E. cellulose a été étudiée par électrophorèse sur papier. Les meilleures séparations sur colonne ayant été obtenues à un pH voisin de celui de l'électrophorèse, l'interprétation des diagrammes obtenus avec les deux techniques s'en est trouvée facilitée.

Matériel et techniques

Préparation des protéines du lactosérum.

Deux types de préparation ont été réalisés à partir de laits de mélange ou individuels de brebis appartenant au troupeau du C.N.R.Z. (race *Préalpes du Sud*).

a) Précipitation selon *Aschaffenburg et Drewry* (1959). — Le volume préconisé par les auteurs pour le lait de vache a été modifié. A 25 ml de lait entier, dilués à 80 ml et portés à 35°C, on ajoute en agitant 4 ml de CH_3COOH à 10 p. 100, puis 5-10 minutes plus tard, 4 ml de CH_3COONa ; on complète à 100 ml. Après refroidissement, on filtre sur papier Whatman n° 3 MM.

b) Précipitation de la caséine avec HCl N. — Le lait écrémé, dilué au 1/2, chauffé à 35°C est amené à pH 4,5 avec HCl N. Le

surnageant de centrifugation est filtré sur papier Whatman n°3 MM.

Les 2 types de filtrats sont dialysés d'abord contre l'eau courante (1 nuit), puis contre l'eau distillée pendant 4-5 jours (5 fois 20 volumes). Le dialysat est de nouveau filtré sur papier. En effet, un précipité très minime, dont la nature n'a pas été étudiée, se forme au cours de la dialyse. Le filtrat est lyophilisé. Les produits lyophilisés sont conservés au réfrigérateur (+ 4°C).

Chromatographie sur colonne de D.E.A.E.-cellulose.

La D.E.A.E.-cellulose *Serva* est lavée par la soude et par le tampon pipérazine-NaCl pH 4,4 selon *Semenza* (1960). Des colonnes de 3 × 20 cm ont été utilisées. Les chromatographies ont été réalisées à la température du laboratoire soit en tampon Tris 0,01 M-HCl pH 8,5 soit en tampon pipérazine 0,0067 M-HCl pH 8,5. Aucune influence propre au tampon, sur la séparation n'a été constatée.

600 à 800 mg de produit lyophilisé, dissous dans 10 ml de tampon sont placés sur la colonne. Une élution par gradient exponentiel de force ionique (NaCl 0 → 0,4 M) a été employée. La vitesse d'élution était de 60 ml/h et des fractions de 10 ml étaient collectées. Le volume du mélangeur était de 2 000 ml.

Dans la plupart des chromatographies, les deux fractions de fin d'élution, qui, avec ce gradient, sortent très étalées ont été rassemblées en quelques tubes, en éluant directement avec le tampon 0,4 M NaCl, 20 à 30 tubes après la sortie du pic F8 (fig.1 et 2)

Filtration sur Sephadex G 100

Une colonne de 3 × 56 cm est remplie avec du Sephadex G 100 que l'on a laissé gonfler dans le tampon pipérazine 0,0067 M-HCl pH 8,5 NaCl 2 M durant deux jours. 300 mg de produit dissous dans 3 ml du même tampon sont placés sur la colonne.

Electrophorèse sur papier

Les expériences ont été réalisées en tampon Véronal-Véronal sodique pH 8,6 selon *Aschaffenburg* et *Drewry* (1955).

Recherche de l'activité peroxydasique

Méthode au gaïacol (*Maehly* et *Chance* - 1954).

Recherche des anticorps

Le lait utilisé venait de brebis vaccinées par plusieurs injections locales ou générales d'antigènes salmonelliques et brucelliques et d'anatoxine staphylococcique. La détection et le dosage des

anticorps correspondants (*Salmonella O* et *H*, *Brucella*) ont été faits par agglutination et par inhibition de l'hémolyse due à la toxine α (Plommet 1964). Les titrages ont été réalisés à partir de 5 mg de produit lyophilisé dissous dans 0,85 ml d'eau.

Détermination des coefficients d'extinction

Les fractions lyophilisées ont été au préalable desséchées 48 h sous vide et $P_2 O_5$ puis dissoutes dans un tampon Tris 0,01 M-HCl pH 8,5 pour les 10 premiers pics, dans la soude N/4 pour les deux derniers. Les lectures ont été faites à l'aide du spectrophotomètre Cary 14.

Résultats

43 chromatographies de lactosérum provenant les unes de laits de mélange, les autres de 12 laits individuels ont été réalisées.

Les chromatogrammes les plus représentatifs des séparations obtenues avec les deux types de lactosérum sont présentés dans les figures 1 et 2. 95 à 100 p. 100 en poids des protéines placées sur la

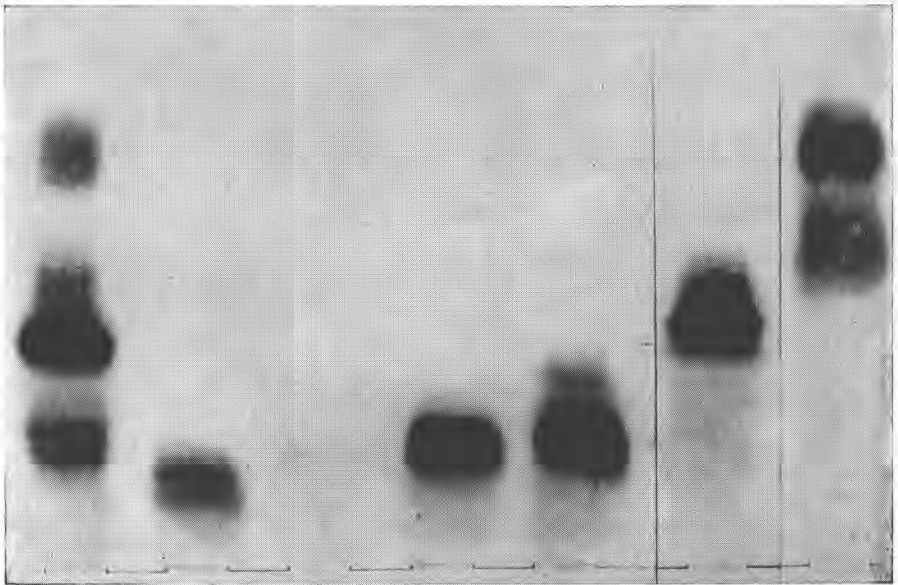


FIG. 3. — *Electrophorèse sur papier de différentes fractions isolées par chromatographie sur colonne*

De gauche à droite : lactosérum total L. T., (filtrat pH 4,5)
pic F_1 — pic F_2 — pic F_4 — pics F_5-6-7 réunis — pic F_8 — pic F_9-10 réunis.
 F_2 constitué principalement de nucléotides
ne se colore pas au bleu de bromophénol.

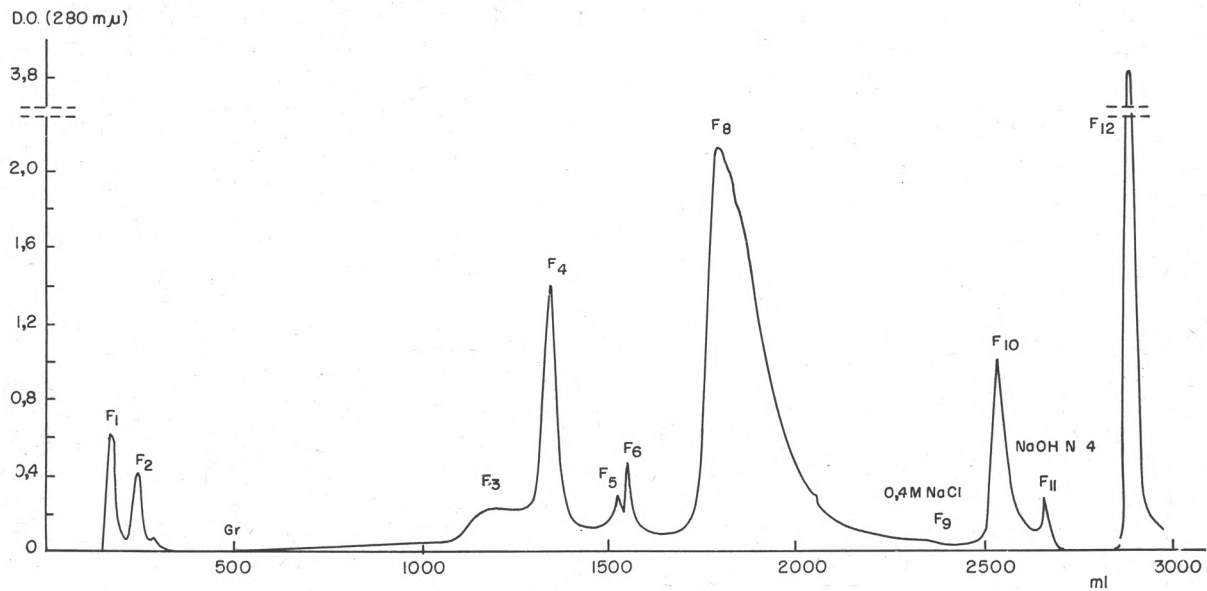


FIG. 1. — Chromatographie sur colonne de D.E.A.E.-cellulose de lactosérum individuel de brebis (filtrat pH 4,5)

colonne sont éluées et 12 pics peuvent être dénombrés. Les tubes correspondant aux sommets des pics ont été rassemblés, dialysés et lyophilisés. Les fractions ainsi obtenues, ont été étudiées par spectrophotométrie en UV (tableau 1) et par électrophorèse sur papier (Fig. 3). Nous avons également recherché l'activité peroxydasique et la présence d'anticorps agglutinants et antitoxiques.

TABLEAU I

COEFFICIENTS D'EXTINCTION A 280 $m\mu$ ET AU MAXIMUM D'ABSORPTION DES FRACTIONS ISOLÉES PAR CHROMATOGRAPHIE SUR D.E.A.E.-CELLULOSE

Pics	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅₋₆₋₇	F ₈	F ₉₋₁₀	F ₁₁	F ₁₂
Max ($m\mu$)	278	262	270	263	278	278	278	290	290
E 0,1% 1 cm, 280 $m\mu$	0,93	1,40	0,60	1,47	0,89	0,84	0,75	0,97	1,07
E 0,1% 1 cm, λ max	0,98	3,17	0,67	2,72	0,90	0,84	0,79	1,05	1,14

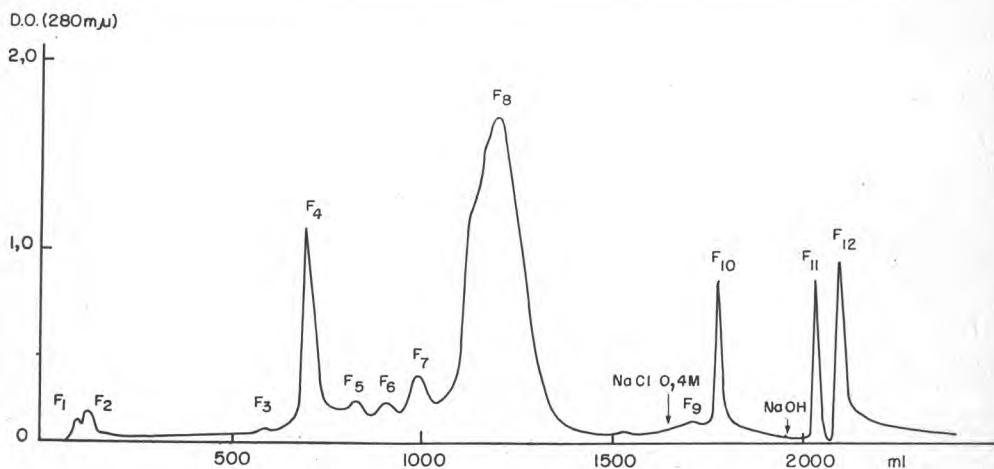


FIG. 2. — Chromatographie sur colonne de D.E.A.E.-cellulose de lactosérum de mélange (précipitation selon ASCHAFFENBURG et al.)

Le pic F₁ présente une activité peroxydasique. Si la peroxydase du lait de brebis a la même activité spécifique que celle du lait de vache, cette protéine représenterait 10 p. 100 de la fraction F₁. L'électrophorèse sur papier montre que cette fraction comporte au moins deux constituants.

Les pics F₂-F₃-F₄ présentent un spectre d'absorption à caractère nucléique. Pour vérifier la présence possible de nucléotides dans nos préparations de lactosérum, une filtration sur Séphadex

G 100 à force ionique élevée a été réalisée, ceci dans le but de dissocier, s'il y avait lieu, les nucléoprotéines présentes. Le diagramme obtenu est donné par la figure 4. La fraction ayant un maximum d'absorption à 260 m μ , représentant 9,5 p. 100 de la somme des densités optiques à 280 m μ , a été dialysée et lyophilisée. La guanine et l'uracile monophosphate ont pu être identifiés après hydrolyse par l'acide chlorhydrique N 1 h à 100° et chromatographie en isopropanol/HCl/H₂O. Le rapport U/G est de l'ordre de 2.

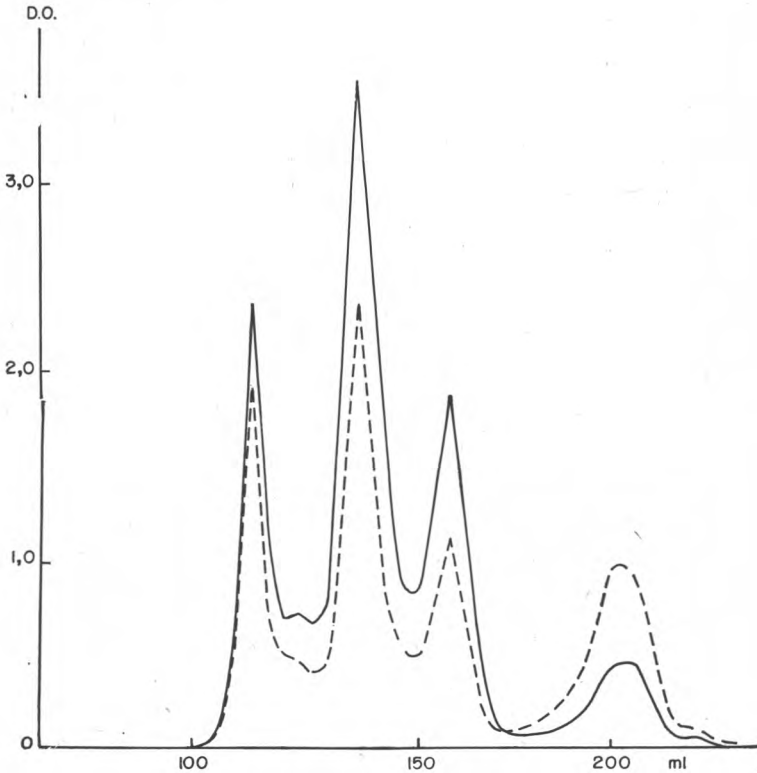


FIG. 4. — Filtration sur Séphadex G 100 de lactosérum de brebis (filtrat pH 4,5)
Fractions de 10 ml — Vitesse de filtration 40 ml/heure.
— Densité optique à 280 m μ .
..... Densité optique à 260 m μ .

Les pics F₃ et F₄ contiennent la majorité des anticorps agglutinants et antitoxiques. Une légère agglutination correspondant probablement à des traces de ces fractions est observée avec les pics F₅F₆ et F₇ (tableau III).

Les pics F₅-F₆-F₇ ne sont présents que dans le lactosérum provenant de laits de mélange. Dans le cas des lactosérums individuels

TABLEAU III

Agglutination et inhibition de l'hémolyse due à la toxine α présentées par les différentes fractions isolées par chromatographie sur colonne

Fractions	Dilution d'agglutination avec :			Dilution n'inhibant plus l'hémolyse due à la toxine α
	Antigène O	Antigène H	Antigène Brucellique	
Lactosérum	1/8	1/8	1/16	1/16
F ₁	0	0	0	1/2
F ₂	0	0	0	0
F ₃	1/4	1/256	1/128	1/32
F ₄	0	1/256	1/64	1/32
F ₅₋₆₋₇	1/4	1/32	1/64	1/8
F ₈	0	0	0	—
F ₉ -F ₁₀	0	1/4	0	—
F ₁₁ -F ₁₂	0	0	0	—

étudiés, 1, voire 2 de ces pics sont souvent absents. L'électrophorèse sur papier de ces 3 pics réunis ne présente que 3 bandes d'inégale importance.

Le pic F₈ représente le constituant principal du lactosérum (environ 60 p. 100). Il présente un épaulement en chromatographie et 3 bandes sont décelées par électrophorèse sur papier. Une préparation de β -lactoglobuline de brebis cristallisée (Maubois et al., 1964) migre au niveau de la bande centrale.

Les pics F₉ et F₁₀ sont difficilement séparables avec le gradient utilisé, aussi les avons nous étudiés ensemble. Deux bandes sont décelées en électrophorèse sur papier. L'examen d'un sérum sanguin avec cette même technique nous a permis de constater d'une part que le composant le plus rapide avait la même mobilité que la sérum-albumine et d'autre part que les pics F₃ et F₄ qui ont tous les deux une mobilité électrophorétique identique migraient au niveau des bandes des immuno-globulines du sérum.

La proportion des différents pics séparés par chromatographie sur colonne dans les deux types de lactosérum et données dans le tableau II. Les résultats énoncés sont la moyenne de 4 expériences réalisées à partir de la même préparation de lactosérum provenant de lait de mélange. Lors de l'examen des lactosérum individuels

TABLEAU II

Proportion des différents pics isolés par chromatographie dans les deux types de lactosérum

Fractions	D.O. en %	D.O. totale	D.O./E en %	D.O. totale/E***
	N.C.*	Filtrat pH 4,5**	N.C.	Filtrat pH 4,5
F ₁	0,5 ± 0,01	2,3 ± 0,2	0,5	2,2
F ₂	1,1 ± 0,03	1,8 ± 0,4	0,7	1,2
F ₃	1,1 ± 0,2	5,1 ± 0,2	1,7	7,6
F ₄	12,3 ± 0,2	10,2 ± 3,5	7,5	6,2
F ₅₋₆₋₇	10,3 ± 1,3	4,3 ± 1,4	10,4	4,4
F ₈	58,3 ± 2,1	52,5 ± 2,5	62,1	56,0
F ₉₋₁₀	7,2 ± 0,4	7,6 ± 2,1	8,5	9,7
F ₁₁₋₁₂	10,3 ± 1,9	14,7 ± 2,1	8,4	12,4

* N.C. = (Non caséine) lactosérum résultant de la précipitation selon ASCHAFFENBURG et DREWRY (1959).

** Filtrat pH 4,5 : précipitation isoélectrique à pH 4,5 par HCl N.

*** Coefficient d'extinction à 280 m μ .

des variations quantitatives très importantes ont été constatées au niveau des pics F₂ et F₄. Les valeurs extrêmes sont de l'ordre de 0,7 à 7 p. 100 (DO/E) pour F₂, de 2,4 à 6,9 p. 100 pour F₄.

10 à 14 p. 100 du produit mis sur la colonne ne sont élués que par la soude N/4. Cette proportion atteint 17 p. 100 pour certains lactosérum individuels.

Discussion

La chromatographie sur colonne permet de séparer le lactosérum de brebis en au moins 10 fractions dont deux sont des constituants à base d'uracile et de guanine. Six des pics peuvent être identifiés au moyen de l'électrophorèse sur papier, de la spectrophotométrie en UV et par la recherche des anticorps.

Denamur et al., (1959) ont rapporté la présence en quantité relativement importante de nucléotides à base de guanine et d'uracile dans le lait de brebis (27,2 micromoles de G et 262 micromoles de U pour 100 ml de lait). Environ 25 p. 100 des nucléotides guanyliques et 5 p. 100 des nucléotides uridyliques décelés par ces auteurs sont encore présents dans nos préparations. Il paraît exclu que ces composés soient liés directement à des protéines ; en effet, une

filtration sur Séphadex G 100 dans le même tampon pipérazine mais à force ionique faible ($\mu = 0,01$) a donné une séparation identique à celle de la figure 4. Il est plus probable que ces nucléotides sont liés à des sucres ou des dérivés sucrés pour former des composés du type guanosine hexose diphosphate, uridine diphosphate sucre et uridine diphosphate acétyl hexosamine comme ceux isolés par *Denamur et al.*, (1959). Ces constituants seraient adsorbés sur les molécules protéiques et de ce fait non dialysables.

L'élimination de ces composés du lactosérum de brebis se fait facilement par passage sur Séphadex G 100 et il est probable qu'une séparation plus fine des protéines serait obtenue en chromatographiant chacun des 3 pics obtenus par ce dernier traitement.

L'examen de l'absorption en UV montre que ces nucléotides sortent au niveau des pics F_2 - F_3 et F_4 . Les pics F_2 et F_4 doivent leur être attribués en majeure partie.

Le pic F_1 est un mélange de deux ou plusieurs protéines dont la lactoperoxydase. La chromatographie sur colonne de D.E.A.E.-cellulose pourrait être un premier stade de purification dans la préparation de cet enzyme qui n'a pas encore été isolé du lait de brebis.

La présence d'anticorps et la comparaison par électrophorèse sur papier avec un sérum sanguin de brebis indiquent que les immuno-globulines sont localisées au niveau des pics F_3 et F_4 .

Le pic F_8 qui est formé essentiellement par la β -lactoglobuline, présente trois bandes par électrophorèse sur papier. Or deux bandes sont décelées dans l'électrophorèse sur papier et sur gel d'acrylamide de β -lactoglobuline cristallisée, préparée à partir d'un lait de petit mélange (*Maubois et al.*, 1964). Seul l'examen de nombreux laits individuels pourrait nous permettre d'affirmer que ces deux bandes correspondent à des variants génétiques de même nature que ceux identifiés dans le lait de vache (*Aschaffenburg et Drewry*, 1957). Cependant l'épaulement constaté en chromatographie et deux des 3 bandes décelées en électrophorèse sur papier de la fraction F_8 doivent pouvoir être attribués en toute vraisemblance à ce type d'hétérogénéité. Quant à la 3^e bande décelée en électrophorèse sur papier, il est probable qu'il s'agit d'une impureté de nature différente de la β -lactoglobuline. La proportion de 56 à 60 p. 100 calculée pour ce pic F_8 semble plus valable que celle déterminée par *Ravaioli et Giovenali* (1961) à partir d'électrophorèses sur papier. Ces auteurs n'ont en effet, pas tenu compte des divers coefficients de fixation du colorant par les différentes protéines du lactosérum.

Le pic F_{10} sortant le dernier au cours de l'éluion doit correspondre au composant le plus rapide en électrophorèse sur papier, et de ce fait, représenter la sérum-albumine contenue dans le lait de brebis. Les pics F_5 - F_6 - F_7 et F_9 n'ont pu être identifiés. Quant

au matériel élué par la soude (F_{11} , F_{12}), il peut s'agir soit de protéines particulières contenues dans le lactosérum, soit d'une fraction représentative du produit de départ fortement absorbée sur le support et ne pouvant être éluée par l'élévation de force ionique.

La différence très reproductible de comportement sur colonne de D.E.A.E.-cellulose entre les 2 types de lactosérum s'explique difficilement. Cette différence est supérieure aux erreurs d'expérience (cf tabl. 2 où les écarts maximums observés sur les essais sont donnés pour chaque pic). Dans la précipitation selon *Aschaffenburg* et *Drewry* (1959), une floculation brutale de la caséine à pH 4,1 a lieu et il se peut que certaines protéines correspondant aux pics F_1 - F_2 - F_3 soient entraînées partiellement par absorption lors de ce traitement, mais cette hypothèse n'est guère satisfaisante car la fraction F_5 - F_6 - F_7 présente une porportion plus élevée dans ce type de lactosérum.

La chromatographie sur colonne de D.E.A.E.-cellulose semble donc être un moyen commode et simple de séparer les protéines du lactosérum de brebis ; un meilleur fractionnement, obtenu après élimination des constituants nucléotidiques à base d'uridine et de guanine doit nous permettre de caractériser les pics non encore identifiés. La séparation et la purification des différentes protéines du lactosérum et plus particulièrement des immuno-globulines peuvent être espérées à partir des résultats déjà obtenus avec cette technique.

Remerciements

Nous tenons à exprimer nos remerciements à M. *Gaye* qui a bien voulu se charger de l'identification des nucléotides isolés par filtration sur Séphadex et à Mme *Vassal* pour la recherche de la lactoperoxydase.

Nous tenons également à remercier MM. *Plommet*, *Ribadeau-Dumas* et *Garnier* pour l'aide et les conseils qu'ils nous ont apportés dans la réalisation de ce travail.

Summary

Chromatography of whey proteins of ewe's milk

The separation of whey proteins of ewe's milk on D.E.A.E.-cellulose column has been studied. Twelve fractions have been detected. Their purity has been studied by paper electrophoresis. The fractions corresponding to Lactoperoxydase, Immune globulins, β -Lactoglobulin and Serum albumin have been identified by paper electrophoresis, U.V. Spectrophotometry and precipitins and anti-

toxins antibodites tests. The fractions F_2 , F_3 and F_4 contain non dialysable components with Uridine and Guanine, they are separated from the whey proteins by filtration on *Sephadex G 100*. The percent by weight of each fraction has been calculated and β -Lactoglobulin (fraction 8) represents 55 to 60 p. 100 of the total proteins of whey of ewe's milk.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ASCHAFFENBURG R., DREWRY J., 1955. Occurrence of different β -lactoglobulins in cow's milk. *Nature*, 176-218.
- ASCHAFFENBURG R., DREWRY J., 1959. New procedure for the routine determination of the various non-casein proteins of milk *XV^e Congr. Intern. Laiterie*, **3**, 1631-1637.
- ASCHAFFENBURG R. et DREWRY J., 1957. Genetics of the β -lactoglobulin. *Nature*, 180-376.
- DENAMUR R., FAUCONNEAU G. et GUNTZ G., 1959. Les nucléotides acid-solubles des laits de brebis, vache, chèvre et truie. *Rev. Esp. Fisiol.*, **15**, 4, 301-310.
- DEUTSCH H. F., 1947. A study of whey proteins from the milk of various animals. *J. Biol Chem*, **169**, 437-439
- DILANYAN Z., et AGABABYAN A., 1962. Investigations on proteins of buffalo's and ewe's milk. *XV^e Congr. Intern. Laiterie B*, 691-697.
- MAEHLY A. C. et CHANCE B., 1954. The Assay of catalases and peroxydases. *Methods Biochem. Anal.*, **1**, 385-395.
- MAUBOIS J. L., PION R. et RIBADEAU-DUMAS B., 1965. Préparation et étude de la beta-lacto-globuline de brebis cristallisée. *Bioch. et Bioph. Acta.* 107-501-510.
- PLOMMET M. En cours de publication.
- RAVAIOLI L. et GIOVENALI E., 1961. Electrophoretic analysis of cow's, ewes' and buffaloes' milk serum. *Ist. Sup. San.*, **24**, 748-753.
- SEMENZA G., 1960. Chromatographie des protéines sur dérivés de la cellulose échangeurs d'ions. *Chimia*, **14**, 325-339.

REVUE

LE LAIT DANS LE MONDE

par

G. GENIN

Ingénieur E.P.C.I.

Généralités

La production mondiale de lait en 1964.

Le ministère de l'Agriculture des Etats-Unis, par la publication de ses « Foreign Agriculture Circulars » nous fournit chaque année de remarquables statistiques sur l'activité de l'industrie laitière.