

Phénotypage de la robustesse des vaches allaitantes charolaises : la mesure échographique comme estimateur des réserves corporelles et de leurs variations

GIRAUD J. M. (1), EGAL D. (2), DE LA TORRE A. (1), AGABRIEL J. (1)

(1) INRA, UMR 1213 Herbivores, 63122 Saint Genès Champanelle
Clermont Université, VetAgro Sup, UMR 1213 Herbivores, 63000 Clermont-Ferrand
(2) INRA, UE1296 Monts d'Auvergne, 63820 Laqueuille

RESUME

L'évaluation *in vivo* de l'état corporel des animaux s'appuie sur l'estimation des dépôts adipeux sous-cutanés. Pour cela il existe plusieurs méthodes dont les grilles de notation de l'état du dépôt sous-cutané (NEC), ou la mesure de la taille de ses adipocytes (DIAM). La mesure par échographie de ce tissu sous-cutané constitue une troisième méthode d'évaluation. Elle a été testée sur des vaches Charolaises dans un dispositif expérimental répété deux années consécutives dont l'un des objectifs était de comparer ces trois méthodes. Au total des deux années, 42 vaches en début de lactation ont été réparties en deux lots homogènes recevant des niveaux alimentaires contrastés (haut +2 UFL et bas -3 UFL soit respectivement 120 et 70% des besoins) pendant 87 jours afin d'obtenir des dynamiques d'états corporels très différentes. Nous avons mesuré i) les évolutions de poids (+14, -49kg) ii) les évolutions de NEC (+0,12, -0,62) iii) les variations de DIAM (+2, -12 μ m). La teneur en lipides du corps (LIP%PV=11,2%) a légèrement augmenté (H :+0,5%), ou fortement diminué (B :-2%). Des images échographiques ont été réalisées par 2 opérateurs tous les 15 jours au flanc et à la fesse. Sur les images retenues, trois distances ont été mesurées : 1°) au flanc : la peau + tissu adipeux + muscle (CPTAM), 2°) à la fesse, la peau + tissu adipeux (FPTA) et la peau + tissu adipeux + muscle (FPTAM). Une base de 952 mesures pour chaque distance a été constituée. Au final, les corrélations entre NEC, adipocytes et la somme S1 de FPTA et CPTAM sont de 0,82 et 0,80. Lip%PV est linéairement lié à S1 (pente de 1,77%/cm). Cette équation devra être validée, notamment sur d'autres races, pour être utilisée en prévision. Cette méthode échographique pourra être utilisée seule ou en complément des autres, suivant les objectifs poursuivis (élevage ou recherche).

Phenotyping the robustness of Charolais suckler cows: ultrasonographic measurement as an estimator of body reserves and their variations

GIRAUD J. M., EGAL D., DE LA TORRE A., AGABRIEL J.
INRA, UMR 1213 Herbivores, 63122 Saint Genès Champanelle

SUMMARY

The *in vivo* assessment of body condition is based on the estimation of subcutaneous adipose tissues. Several methods are used such as body condition scoring (NEC), or measure of the diameter of the adipocytes (DIAM). The ultrasound measurement of the subcutaneous tissue is a third method. It was tested on Charolais cows in a repeated trial whose objectives were to compare with the two other methods. In total, 42 cows in early lactation were divided into two homogeneous groups receiving two feeding levels (high or low respectively -3 +2 UFL/ requirements) for 87days to obtain different body fat. We measured i) changes in weight (+ 14 -49kg) ii) changes in NEC (+0.12, -0.62) iii) changes in DIAM (2, -12 μ m). Initial body fat composition (11.2 Lip% PV) increase (+0.5% (H) or decrease -2% (B). Ultrasound coastal and rump images were performed by two operators every 15 days. On selected images, 3 distances were measured: 1) coastal: skin + fat + muscle (CPTAM), 2) rump, skin + fat (FPTA) and skin + fat + muscle (FPTAM). A database of 952 data distance was established. Finally correlations between NEC and adipocytes and sum S1 (CPTAM+FPTA) are 0.82 and 0.80. Lip% PV is linearly related to S1 (slope of 1.77% / cm). This equation must be validated, including other breeds, for use in forecasting. This ultrasound method can be used alone or in addition to the other depending on the objectives pursued (breeding or research)

INTRODUCTION

Les bovins allaitants de demain devront être plus qu'auparavant résistants aux aléas qui impactent en particulier leurs ressources alimentaires. La capacité pour une vache à mobiliser et reconstituer ses réserves corporelles lipidiques est une composante de sa robustesse et pourrait ainsi être considérée comme un de ses indicateurs. La masse adipeuse d'un bovin se mesure à l'abattoir par la dissection totale du corps, procédure lourde et coûteuse. Pour l'estimer indirectement on dispose actuellement sur le terrain de la note d'état attribuée par palpation (ou visuellement) à partir d'une grille déterminée (Agabriel *et al*, 1986) dont la précision d'estimation est faible (environ ± 20 kg). Dans les unités expérimentales, on utilise la mesure du diamètre des adipocytes du tissu adipeux sous-cutané (Robelin *et al* 1986) d'une meilleure précision (± 14 kg). Le système Velocity of Sound (VOS) également utilisé en France mesure la vitesse des ultrasons qui se modifie selon la composition chimique des

tissus (Renand *et al*, 1992). Il a donné satisfaction dans les stations de contrôle de performances de mâles, mais la construction des machines est stoppée. L'échographie bidimensionnelle représente une technique objectivée, non invasive et peu coûteuse plus largement répandue. Plusieurs pays l'utilisent depuis longtemps pour mesurer les épaisseurs des tissus adipeux sous-cutané à divers endroits du corps. Outre-atlantique la mesure est faite au niveau du dos en transverse du muscle long dorsal (Ribeiro *et al* 2008). La distance ainsi obtenue est souvent utilisée directement comme indicateur, sans viser l'estimation des lipides. En Europe sur vaches laitières Schröder et Staufendiel (2006) proposent que la mesure échographique soit réalisée proche de la fesse. Dans leurs observations, une variation de 10mm de la mesure correspond à 50 kg de lipides et un point de note d'état. La technique échographique doit être ajustée et validée sur les races à viande françaises. Ce travail en est un premier pas.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Deux expérimentations ont été conduites en 2011 et 2012 à l'Unité Expérimentale des Monts d'Auvergne sur le site de Laqueuille. En 2011, 20 vaches allaitantes Charolaises (10 primipares et 10 multipares 749 ± 31 kg NEC = 2,46 ± 0,23 après vêlage) ont été réparties en 2 lots homogènes selon la parité, la date de mise bas, le poids et la note d'état corporel (NEC). En 2012, le même schéma a été reconduit avec 22 vaches multipares (787 ± 43 kg NEC = 2,32 ± 0,19). Les animaux ont été conduits en stabulation entravée et alimentés individuellement du vêlage à la mise à l'herbe (89 jours 2011 et 85 j en 2012). Les rations distribuées ont été calculées selon les besoins de chaque animal estimés selon INRA 2007 à 0,041 UFL par kg P^{0,75} pour l'entretien) + 0,45UFL par litre de lait produit + 0,7 UFL/j pour les primipares pour satisfaire les besoins de croissance. Chaque lot recevait soit un niveau alimentaire Haut (H, besoins + 2 UFL =120%) soit Bas (B, besoins - 3UFL=70%). Le différentiel de 5 UFL est suffisant pour induire des états d'engraissement contrastés entre les lots H et B avant la mise à l'herbe. Le niveau haut recevait une ration composée de 70% foin et 30% concentré, le niveau bas 90% de foin 10% de concentré (cf. tableau 1).

Tableau 1 : Valeurs nutritionnelles des aliments (par kg MS) et des rations. Quantités ingérées. (Les données concernant les concentrés sont en italique)

	UFL	PDIN	PDIE	Quantité ingérée /animal / jour
2011				
Foin (F)	0,67	82	80	
<i>Concentré (CC)</i>	<i>0,92</i>	<i>134</i>	<i>105</i>	
H : F 70% /CC 30%	0,745	97,6	87,5	11,2 /4,8
B : F 90% /CC 10%	0,695	87,2	82,5	8.9 / 0.9
2012				
Foin	0,62	50	65	
<i>Concentré</i>	<i>0,92</i>	<i>134</i>	<i>105</i>	
H : F 70% /CC 30%	0,71	75,2	77	11,6 /5,2
B : F 90% /CC 10%	0,65	58,4	69	9,0 / 0,9

1.2. MESURES

Les vaches ont été pesées à 14 heures toutes les deux semaines. La NEC a été systématiquement réalisée en même temps que les pesées. A la même fréquence, les mesures échographiques ont été faites avec un appareil Aloka Prosound 2 et une sonde linéaire endorectale à 5 MHz positionnée perpendiculairement à la colonne vertébrale. Deux opérateurs ont réalisé les images indépendamment l'un de l'autre. Deux sites de mesures ont été retenus : i) sur le flanc entre la 12ème et 13ème côte et ii) sur la fesse à mi-distance entre la pointe des hanches et le trochanter. Sur les images retenues (une par opérateur, par animal, par jour de mesure et par site de mesure) trois distances ont été mesurées: 1°) au flanc : peau + tissu adipeux + muscle (CPTAM) (figure 1 et encadré 1), 2°) à la fesse : peau + tissu adipeux (FPTA) et peau + tissu adipeux + muscle (FPTAM) (figure 2, encadré 2) Pour chaque vache, ces trois mesures ont été réalisées 7 fois dans l'expérimentation de 2011 et 8 fois en 2012. Ainsi pour chaque distance, un ajustement par régression linéaire a été réalisé en fonction du temps. Les valeurs ajustées de chaque distance en début et fin d'expérience ont permis de calculer les variations correspondantes (tableau 2).

La mesure du diamètre des adipocytes (DIAM, µm) par biopsie du tissu adipeux sous-cutané (Robelin *et al*, 1986) a été réalisée en début et fin d'expérimentation et a servi de mesure de référence pour quantifier les variations individuelles des lipides corporels des vaches (Garcia *et al*, 2007).

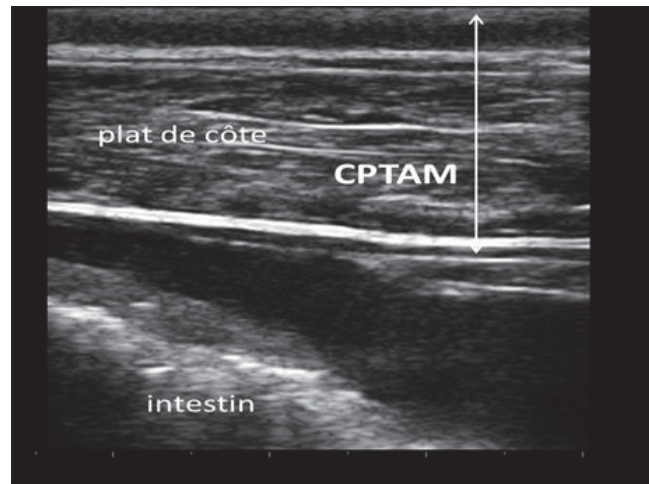


Figure 1 :Image échographique au niveau du flanc (C12 C13)

Encadré 1 : Repères au niveau du flanc et distance mesurée sur l'image correspondante.

Repère anatomique	dans l'intervalle entre la 12ème et la 13ème côte, à la fin de la 13ème côte
Repère sur l'image échographique	au niveau du décrochement de la 13ème côte, en repérant les mouvements péristaltiques de l'intestin
Mesures sur l'image retenue (CPTAM):	du haut de l'image jusqu'au bas du plat de côte (peau + gras + plat de côte)

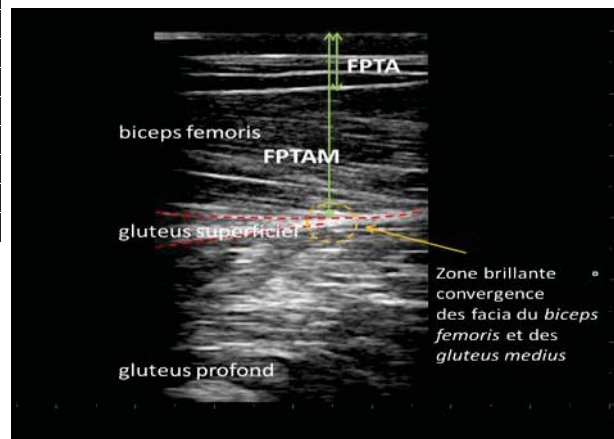


Figure 2 :Image échographique au niveau de la fesse

Encadré 2 : Repères au niveau de fesse et distances mesurées sur l'image correspondante

Repère anatomique	à mi-distance entre la pointe de la hanche et la pointe de l'ischion
Repère échographique	au-dessous du <i>biceps femoris</i> , à l'intersection entre la partie superficielle et la partie profonde du <i>gluteus medius</i>
Mesures sur l'image	FPTA : du haut de l'image jusqu'au <i>facia</i> du <i>biceps femoris</i> (peau + gras) FPTAM : du haut de l'image jusqu'au <i>gluteus medius</i> (peau + gras + <i>biceps femoris</i>)

1.3. ANALYSES STATISTIQUES

Deux ensembles de données indépendantes ont été analysés :

1°) une base de 952 distances validées pour CPTAM, FPTA et FPTAM, mesurées sur des images faites par l'un et l'autre des opérateurs. Elle a servi pour l'analyse descriptive et le calcul

des régressions linéaires individuelles en intégrant l'effet de l'opérateur et de l'année (PROC GLM : SAS STAT V9). Ce dernier, systématiquement non significatif a ensuite été retiré. L'effet du niveau alimentaire sur la variation de chacune des distances a été analysé par modèle mixte (MIXED) en considérant l'effet individu comme aléatoire.

2°) une base des 84 mesures individuelles faites sur les vaches en cours d'expérimentation : poids, NEC, adipocytes, lipides (kg et %PV). Les poids initiaux et finaux résultent de l'ajustement linéaire des poids mesurés.

Des corrélations simples ont été recherchées (CORR SAS V9) entre les valeurs finales des mesures individuelles et les valeurs ajustées des 3 distances (soit n=42).

2. RESULTATS

2.1. VARIATIONS DE POIDS ET D'ETAT CORPOREL (TABLEAU 2)

Les variations moyennes des poids vifs sur la période expérimentale ont été de +19 Kg (2011) et +10kg (2012) pour les lots H et -35 Kg (2011) et -55 kg (2012) pour les B. Les variations journalières de poids ajustés sont de +187g/j (lot H) et -544g/j (lot B) ($p < 0.01$). L'effet année n'est pas significatif.

Les variations de DIAM ont été de + 7 μ m et -11 μ m (2011) et -3 μ m et -12 μ m (2012) respectivement pour les lots H et B. Les effets lots et années sont significatifs. Cela est surtout le fait des valeurs opposées du lot H (+7 et -3) mais qui restent pourtant peu élevées.

La variation de NEC a été de + 0,12 pour le lot H et -0,62 point pour le lot B ($p < 0,01$), soit un écart 0,74 points sans effet significatif de l'année.

En résumé, les niveaux alimentaires ont induit des écarts relatifs de -8% (poids), -18%(DIAM), et -31 % (NEC) par rapport à leur valeurs initiales.

2.2. ANALYSE DES DISTANCES ECHOGRAPHIQUES ET DE LEURS VARIATIONS

Sur les 952 mesures, les valeurs moyennes sont de 3,13 cm \pm 0,56 (cv= 17,8%) pour CPTAM, 0,88 cm \pm 0,19 (cv=20,9 %) pour FPTA et de 3,77cm \pm 0,56 (cv=14,8 %) pour FPTAM. Dans l'ensemble des observations on note donc une moindre variabilité de la dernière mesure. Pour utiliser l'ensemble de cette information dans une variable synthétique, nous avons réalisé les sommes suivantes S1=FPTA + CPTAM et S2=FPTAM+CPTAM

L'effet de l'opérateur sur les distances n'est pas identique selon le site. Non significatif/ve ? Au-niveau de la fesse (pour les 2 distances), on note une différence de 0,1cm au niveau de la côte ($p < 0,01$). Les valeurs de l'un des deux opérateurs sont toujours inférieures à cet endroit.

Les distances échographiques ont varié dans le temps de l'expérience de 0,48 cm (CPTAM), de 0,19 cm (FPTA) et 0,51 cm (FPTAM), soit 16 %,17 et 13% de la situation initiale. FPTAM varie le moins car une part importante de la distance est le fait de la masse musculaire qui apparaît ainsi moins affectée par la restriction nutritionnelle. Les sommes S1 et S2 ont varié dans le même temps de 16 et 14% (tableau 2).

Tableau 2 : Ecart moyen induits par les niveaux alimentaires mesurés entre les lots (H-B) en fin d'expérimentation

Année	Poids (Kg)	NEC (0-5)	Adipo μ m	Lip (Kg)	Lip % PVif	FPTA (cm)	FPTAM (cm)	CPTAM (cm)	S1 (cm)	S2 (cm)
2011	57,9	0,83	18	23,8	14	0,26	0,43	0,74	1,0	1,17
2012	65,6	0,65	9	14,3	8,1	0,05	0,58	0,25	0,30	0,83
Moyenne	62,8	0,74	14	19	11,0	0,19	0,51	0,48	0,65	1,0
% de la valeur initiale	8	30,9	17,6	11,1	11,1	17,2	12,9	16,2	16,3	14,2

Par régression linéaire dans le modèle mixte, les 3 distances varient dans le lot B de -0,0043 cm/j (CPTAM), -0,0019cm/j (FPTA) et de -0,0044cm/j (FPTAM). Les variations journalières observées sur les lots H ne sont pas différentes de 0.

2.3. CORRELATIONS ENTRE LES MESURES REALISEES

La corrélation NEC / adipocytes s'établit à 0,76 ($p < 0,01$), et en parallèle la corrélation CPTAM / FPTA est de 0,61. Bien que celle-ci soit significative elle n'est pas très élevée et valide l'hypothèse que ces deux variables portent une information complémentaire. Ceci confirme l'intérêt de construire la variable S1 (CPTAM+FPTA) qui synthétise les informations complémentaires apportées par les 2 mesures et qui varie davantage que S2.

Les corrélations entre l'état des dépôts adipeux sous-cutanés et les distances échographiques sont toutes significatives et supérieures à 0,65. Au final c'est la somme S1 qui est la mieux corrélée (coefficient supérieur ou égal à 0,8) y compris avec les lipides du corps.

Tableau 3 : Corrélations en fin d'expérience entre variables échographiques et variables d'estimation de la composition corporelle (toutes significatives $p < 0,01$ n=42).

	NEC	adipocytes	Lip % PV *
FPTA	0,66	0,67	0,67
CPTAM	0,79	0,76	0,77
S1	0,82	0,80	0,81

* valeur calculée par les adipocytes et le poids

2.4. RELATIONS ENTRE LA COMPOSITION CORPORELLE ET LES DONNEES ECHOGRAPHIQUES

Pour chaque distance échographique et pour leurs sommes, nous avons établi leurs relations avec la quantité de lipides (en % P V) sur la totalité des mesures (n=84) ou seulement en fin d'expérimentation (n=42 figure 3 a et b) en intégrant l'effet année (ns).

Dans ce dernier cas elles s'établissent ainsi :

Lip %PV = 3,87%+2,12 (+0,27) CPTAM (\pm 0,92) (Eq 1)
 $R^2 = 0,64$

Lip % PV = 6,23%+5,04 (\pm 0,94) FPTA (\pm 1,12) (Eq 2)
 $R^2 = 0,48$

Lip % PV = 6,45%+1,1 (\pm 0,37) FPTAM (\pm 1,34) (Eq3)
 $R^2 = 0,25$

Lip % PV = 3,52%+1,77 (\pm 0,20) S1 \pm 0,87 (Eq4)
 $R^2 = 0,69$

Lip fin% PV = 3,43%+1,06 (\pm 0,17) S2 \pm 1,06 (Eq5)
 $R^2 = 0,53$

L'homogénéité des données en début d'expérience ne permet pas d'améliorer ces relations.

L'équation qui estimerait le mieux la quantité de lipides en % du PV est celle qui utilise S1, combinaison de CPTAM+FPTA. Mais la seule mesure CPTAM l'estime déjà de façon très satisfaisante.

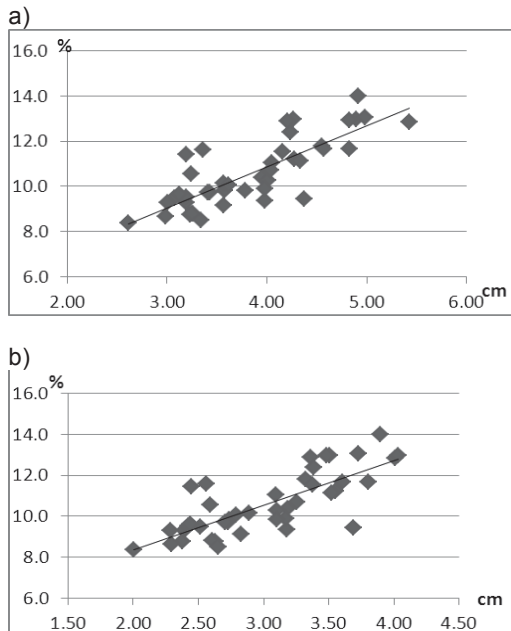


Figure 3 : Lipides en % PV en fin d'expérience en fonction de a) S1 (équation 4) b) CPTAM (équation 1)
Enfin on peut observer que la relation entre la variation de S1 et la variation de lipides corporels mesurée sur chaque vache passe par l'origine et sa pente est de 13,5 kg/cm.

3. DISCUSSION

L'expérimentation mise en place visait globalement à analyser l'intérêt et la faisabilité des mesures échographiques sur des vaches Charolaises dont le tissu adipeux sous-cutané (DASC) n'est à priori pas très développé (Robelin *et al* 1990). Il ne représente en effet que 10 à 20% de la masse adipeuse et en épaisseur ne dépasse pas 2cm quel que soit le lieu de mesure. Cela oblige à utiliser des échographes et des sondes de qualité qui sans doute n'existaient pas jusque-là sur le marché à des prix abordables. Les précédents essais (Giraud *et al* 2010) l'avaient bien montré. La gamme d'appareils désormais disponibles permet des images de très bonne qualité qui autorisent des mesures de variations au millimètre près. Cette tendance ne peut que se poursuivre y compris avec l'arrivée d'échographe 3D.

Sites de mesures et distances retenues : Différents travaux utilisent des sites qui peuvent varier selon le type de bovins (lait ou viande). Pires (2012) avait montré sur des vaches Holstein que le site de la mesure échographique affectait la relation avec l'état corporel (NEC). A la croupe, il privilégie la mesure équivalente à FPTA mais plus en arrière vers la queue, à 20-25% de la distance trochanter-hanche (Schroder *et al*, 2006) vs 50% ici. Cela augmente sans doute sa variabilité (0,9 à 1,4 cm) par rapport à ce que l'on mesure sur les Charolaises, car il inclut davantage le tissu adipeux caudal. Toutefois l'intérêt de l'emplacement de notre mesure est de disposer d'un repère échographique pour s'assurer de la reproductibilité de la mesure entre opérateurs et de sa répétabilité dans le temps.

Les mesures réalisées intègrent l'épaisseur de la peau du tissu adipeux et pour certaines du muscle. La mesure de la peau est toujours intégrée car il est difficile de l'identifier. De meilleures images permettront peut-être de s'en affranchir. Lorsque les muscles s'enrichissent en lipides avec l'état corporel comme le Peaucier ou le Long Dorsal leurs mesures sont intéressantes pour estimer d'autres types de dépôts que les DASC. Elle l'est moins pour les muscles de la fesse comme on l'observe avec FPTAM qui n'apporte rien par rapport à FPTA. Ce n'est pas le cas chez les vaches laitières en début de lactation qui mobilisent à la fois des protéines et des lipides.

Effet opérateur : il n'a été observé que sur le site de mesure au flanc. Cela pourrait résulter d'une pression supérieure qu'un

des deux opérateurs exerce sur la sonde à ce site. Mesurées sur des bœufs de race anglo-saxonne, la répétabilité et la reproductibilité de la mesure faite à la côte (0,91cm en moyenne) atteignent pourtant des valeurs supérieures à 0,9 (Perkins *et al*, 1992). Cela serait à tester sur nos vaches.

Intérêt de sommer les mesures CPTAM et FPTA : La somme S1 apparaît comme un indicateur d'intérêt. Toutefois elle considère des effets identiques à la mesure sur la fesse et sur le flanc sans les pondérer. Sur notre jeu de données, une régression linéaire multiple pas à pas pour expliquer les lipides finaux retient comme significative les deux variables CPTAM et FPTA. Les coefficients de la régression pondèrent la variation de la côte à 40% et celle de la fesse à 60% sans gagner en précision de l'erreur type totale de la régression. Leurs erreurs types sont de l'ordre de 20% ce qui justifie de ne pas les conserver par simplification. Il faudrait un autre jeu de données indépendantes pour valider ce choix.

CONCLUSION

Les deux équations de prédictions de la composition corporelle les plus pertinentes (Eq 4 et Eq1) présentent un écart type résiduel de l'ordre de 10% de la valeur moyenne.

Notre essai appelle à poursuivre la validation de la méthode échographique, en complément de la NEC dans les fermes et/ou en alternative aux mesures d'adipocytes dans les stations expérimentales. Mais il en a montré les limites et les nécessaires évolutions. Selon la destination de la mesure (élevage ou recherche) sa mise en œuvre pourrait s'envisager de façon différente.

En élevage où il s'agit de faire un diagnostic de l'état corporel des animaux pour adapter un niveau alimentaire en fonction de l'état des vaches, une seule mesure peut s'envisager et le choix peut être orienté par le temps disponible et les conditions de contention des animaux.

En station expérimentale pour évaluer des évolutions de composition corporelle, il apparaît clairement qu'il est préférable d'utiliser les 2 sites de mesures et les 2 distances (CPTAM et FPTA) en répétant les mesures avec deux opérateurs et de les combiner (ex S1). Une fréquence adaptée à la durée expérimentale permet de lisser la variabilité des mesures par régression linéaire et de mesurer des variations significatives.

Remerciements à tout le personnel de l'UEMA site de Laqueuille, à I. Constant pour les analyses de Laboratoire et à C. STAUB de l'UEPAO pour les images échographiques

Agabriel J., Giraud J.-M., Petit M., 1986. Bull. tech. CRZV Theix, 66, 43-50

Garcia F., Agabriel J., 2007. INRA Prod. Anim. 20 (2), 137-150.

Giraud, J.M., Drevillon, P., Lecomte, M., Ponsart, C., Martin, J., Gatién, J., Constant, I., De La Torre, A., Agabriel, J. 2010. Renc. Rech. Ruminants, 17, 264

Pires, J.A.A., Bany D., Giraud, J.-M., Rouel, J., Chilliard Y., 2012. Renc. Rech. Ruminants, 19, 193

Renand G., Fostier B., Page S.J., Fisher A.V., 1992.. Proceedings, 38th International Congress of Meat Science and Technology, August 23-28, 1992, Clermont-Ferrand, France., 963-966.

Ribeiro, F.R.B., Tedeschi, L.O., Stouffer, J.R., Carstens, G.E. 2008. J.Anim.Sci.,86, 763-767

Robelin J., 1982. Reproduction, Nutrition, Development 22, 65-73.

Robelin J., Agabriel J., 1986. Bull; tech. CRZV Theix, 66, 37-41

Robelin J., Agabriel J., Malterre C., Bonnemaire J., 1990. Livest Prod Sci 25, 199-215.

Schroder U.J., Staufenbiel R., 2006. J. Dairy Sci., 89, 1-14