

Influences relatives du sexe et d'un traitement anabolisant sur les caractéristiques du muscle long dorsal de veau

KOPP, J., BONNET, Madeleine, ZABARI, M., RENO, J.P., VALIN, C.

Station de Recherches sur la Viande - I.N.R.A. - THEIX - 63122 CEYRAT, France

Introduction

L'utilisation de plus en plus large des hormones et anabolisants pour accélérer la vitesse de croissance des bovins a été rendue responsable de la dégradation des qualités organoleptiques en particulier des viandes de veau. Les premières études des effets de ces composés sur les qualités de la viande n'ont pas permis de mettre en évidence de manière nette ces influences défavorables compte tenu de la grande variabilité de qualité entre muscles et animaux.

Les résultats de Valin et al. (1977) ne font pas apparaître de modifications profondes de la composition des muscles ; au plan des qualités organoleptiques, Valin et al. (1978) ont cependant enregistré une dégradation significative de la tendreté sous l'effet du traitement anabolisant.

Le but de cette étude était de comparer, pour des animaux ayant des vitesses de croissance identiques, les influences des anabolisants chez les veaux mâles et femelles sur les principaux constituants musculaires tant sur le plan quantitatif que qualitatif (en particulier stabilité des protéines et équipement isoenzymatique de la myosine). La comparaison des effets sexe et anabolisants doit également permettre de mettre en évidence les caractéristiques musculaires les plus discriminantes pour les traitements envisagés.

Matériel et méthodes

- Animaux expérimentaux

24 veaux (12 mâles et 12 femelles) de race Normande, élevés à la Station de Recherches sur l'Élevage des Ruminants (P. Thivend) ont été utilisés dans cette expérience. Les animaux ont été nourris au lait reconstitué. La moitié des animaux de chaque sexe a subi une implantation d'anabolisants cinquante jours avant l'abattage sous forme d'un mélange d'oestradiol (36 mg) et d'acétate de trembolone (140 mg).

L'âge moyen à l'abattage était de 5 mois et le poids moyen des carcasses de 120 kg. 24 heures après l'abattage, le muscle Long dorsal a été prélevé de la 10^e à la 12^e côte. Certaines mesures ont été réalisées immédiatement (temps de relaxation et activités enzymatiques) les autres ayant trait à la composition du muscle ont été effectuées à 6 jours post mortem après une conservation à 4°C.

- Méthodes de mesure

Le pH du muscle a été contrôlé à 24 h post mortem sur broyat à l'aide d'un pH-mètre équipé d'une électrode combinée.

La matière sèche a été déterminée à partir d'un broyat de 200 g sur 3 échantillons de 15 à 20 g portés à l'étuve à 106°C pendant 24 heures.

La teneur en collagène : 50 g du broyat ci-dessus ont été lyophilisés puis homogénéisés dans un broyeur à billes (Dangoumeau).

Trois échantillons de 400 mg de poudre lyophilisée sont mis à hydrolyser en milieu perchlorique (15 ml à 70 %, 4 h à 100°C), la teneur en hydroxyproline puis en collagène est déterminée selon la méthode de Bonnet et Kopp (1984) adaptée de Bergman et Loxley (1963).

La tension isométrique : l'aponévrose du muscle Long dorsal prélevé a été séchée au stade 24 heures post mortem, emballée sous vide et conservée à -20°C jusqu'à son utilisation (1 mois en moyenne).

Après décongélation lente à +4°C, les fibres de collagène sont isolées manuellement en milieu aqueux, délipidées et séchées à l'acétone. Les profils de contraction thermique isométrique ont été établis avec le contractomètre déjà décrit (Kopp et al., 1977) à une vitesse de chauffage de 3,5°C/mm à pH 7,4 (Tris 0,02 M, 0,23 M NaCl) après rehydratation préalable des fibres dans ce même milieu pendant au minimum 60 mn.

Le critère de la stabilité thermique retenu pour caractériser le collagène épithélial est la tension maximum développée exprimée par cm² de section sèche initiale de fibre (fig. 1). Trois déterminations ont été réalisées par animal.

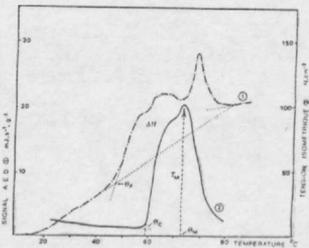


Fig. 1 - Exemples de profils de dénaturation obtenus par Analyse Enthalpique Différentielle de muscle LD (1) et (2) par contraction thermique isométrique de fibres de collagène épithélial du même muscle (2). Thermal denaturation profiles obtained by DSC (AED) of total LD sample (1) and by isometric contraction of epithelial collagen fibers from the same muscle (2).

Analyse enthalpique différentielle : la stabilité thermique de l'ensemble des protéines musculaires a été caractérisée par l'étude des profils d'analyse enthalpique différentielle de 3 échantillons par muscle entre +5°C et +100°C. Une vitesse de chauffage de 5°C/mm a été utilisée dans un calorimètre programmé SETARAM DSC 111. La variation totale d'enthalpie ΔH lors de la dénaturation est obtenue par planimétrie de la courbe du signal calorimétrique (Fig. 1). La ligne de base est établie par un second cycle de chauffage dans les mêmes conditions que le cycle initial. La variation d'enthalpie est rapportée à la matière sèche des échantillons.

- Temps de relaxation : immédiatement après prélèvement des muscles à 24 h post mortem, des échantillons d'environ 500 mg étaient placés dans des tubes RMN de 7,5 mm de diamètre et introduits dans l'entrefer de l'aimant d'un spectromètre BRUKER PC 20 (20 MHz, RMN pulsée du proton). Toutes les mesures (2 prélevements et 2 mesures par prélèvement pour chaque muscle sur 4 à 5 animaux par lot) ont été réalisées en thermostatant les tubes à +10°C avec un délai de 4 s. entre impulsions.

Le temps de relaxation T₁ (spin-réseau) est mesuré avec la méthode d'inversion-récupération (Farrar et Becker, 1971) et les deux temps de relaxation spin-spin, T₂ (T₂ et T₂) par la séquence de Carr-Purcell-Meiboom-Gill (Farrar et Becker, 1977). La valeur des temps de relaxation est obtenue par le calcul de l'ajustement à des régressions non linéaires sur micro-ordinateur (1 exponentielle pour T₁ et 2 exponentielles pour T₂) selon la méthode de réduction de la somme des carrés des écarts des points expérimentaux à la courbe.

- Equipement isoenzymatique de la myosine : l'analyse des isoenzymes de la myosine a été faite selon la méthode de Hoh (1975).

- Analyse statistique : le niveau de signification des traitements a été déterminé par analyse de variance et par comparaison des moyennes des lots selon le test de Student. Une analyse factorielle discriminante et une analyse en composantes principales ont été mises en oeuvre pour déterminer respectivement le pouvoir discriminant des principaux paramètres mesurés et les relations entre ces paramètres.

Résultats

1 - Effets globaux du sexe et du traitement hormonal

Le tableau 1 regroupe les résultats moyens sur l'ensemble des animaux expérimentaux.

Le pH 24 heures de l'ensemble des muscles est de 5,56 (+0,11), aucun pH anormal n'a été enregistré, ce paramètre n'est pas influencé par le sexe ou le traitement hormonal et il n'y sera pas fait référence ultérieurement.

Les caractéristiques musculaires significativement affectées par le sexe des animaux sont la teneur en matière sèche (plus élevée chez les femelles) et la teneur en collagène (plus élevée chez les mâles).

Lorsque cette teneur en collagène est exprimée par rapport au tissu frais, la différence liée au sexe plus réduite mais reste significative au seuil de 5 %. Aucun des autres paramètres analysés ne révèle d'effet spécifique du sexe indépendamment du traitement hormonal.

L'utilisation d'anabolisants, pour l'ensemble des animaux des 2 sexes, diminue significativement la teneur en matière sèche du muscle long dorsal mais n'a pas d'incidence sur la teneur en collagène qu'elle soit rapportée à la matière sèche ou au tissu frais. La stabilité thermique du collagène exprimée par la tension isométrique maximale développée au cours d'un cycle de chauffage est par contre diminuée chez les animaux implantés suggérant une moindre réticulation du collagène chez ces animaux.

Caractéristiques mesurées	Moyenne générale (n = 24) (1)	Sexe		Sign	Traitement hormonal		Sexe x Horm.
		Mâles (n = 12) (2)	Femelles (n = 12) (2)		Témoins (n = 12) (2)	Hormonés (n = 12) (2)	
Matière Sèche (%)	23,95 (0,59)	23,51 (0,43)	24,39 (0,35)	***	24,16 (0,57)	23,74 (0,55)	** NS
Collagène (% MS)	1,943 (0,273)	2,097 (0,276)	1,790 (0,287)	**	1,934 (0,271)	1,953 (0,287)	NS NS
Tension (N.cm ⁻²)	137,4 (23,8)	135,3 (20,5)	139,5 (27,4)	NS	148,0 (23,7)	126,8 (19,3)	* NS
ΔH (J/g MS)	15,29 (0,75)	15,46 (0,89)	15,11 (0,55)	NS	15,02 (0,77)	15,56 (0,65)	NS NS
Myo iso I (%)	16,2 (1,9)	16,7 (1,8)	15,8 (2,0)	NS	16,2 (2,0)	16,2 (1,8)	NS *
Myo iso II (%)	32,9 (1,6)	33,4 (1,7)	32,3 (1,4)	NS	33,7 (1,6)	32,0 (1,2)	** NS
Myo iso III (%)	38,0 (2,6)	37,9 (2,5)	38,1 (3,0)	NS	38,1 (3,0)	37,8 (2,4)	NS NS
Myo iso IV + V (%)	12,9 (2,6)	12,1 (2,3)	13,8 (2,7)	NS	11,9 (2,7)	13,9 (2,1)	* NS
T ₁ (ms)	425,1 (9,8)	425,9 (9,1)	424,3 (11,0)	NS	425,9 (12,2)	424,3 (7,4)	NS NS
T _{2a} (ms)	45,81 (1,59)	46,5 (1,62)	45,12 (1,31)	NS	46,18 (1,58)	45,44 (1,62)	NS NS
T _{2b} (ms)	129,9 (7,8)	130,9 (7,0)	129,0 (9,0)	NS	125,0 (6,7)	134,8 (5,7)	* NS

Tableau 1 : Influence globale du sexe et du traitement anabolisant sur les caractéristiques musculaires. Valeurs moyennes (écarts-types) ; seuils de signification des traitements : P<0,001 (***), P<0,05 (**), P<0,05 (*), P>0,05 (NS) (1, 2) : pour les 8 premiers paramètres : 24 veaux (1) et 12 veaux (2) ; pour les mesures RMN : 16 veaux (1) et 8 veaux (2).

Total sex and hormon effects on muscle characteristics. Means (stand. dev) per treatment ; the significance of treatments is P<0,001 (***), P<0,01 (**), P<0,05 (*), P>0,05 (NS) (1, 2) ; for the 8 first characteristics : 24 veals (1) and 12 veals (2) ; for NMR measurements : 16 veals (1) and 8 veals (2).

Si pour l'équipement isoenzymatique de la myosine nous n'avons noté aucune différence nette entre mâles et femelles, le traitement par les anabolisants provoque une modification significative de la distribution des isozymes donc affecte la définition du type contractile. On observe en effet une diminution de l'isozyme II associée à une augmentation de l'isozyme V.

Enfin le temps de relaxation T_{2b} est augmenté sous l'influence des anabolisants. Globalement, une interaction entre l'effet spécifique du sexe et du traitement hormonal n'a été mise en évidence qu'au niveau de la distribution des isozymes de la myosine pour laquelle le traitement influence différemment les veaux mâles et femelles.

2 - Comparaison de l'effet des anabolisants dans les deux sexes

Les résultats moyens pour les caractéristiques musculaires analysées dans les 4 lots expérimentaux sont rapportés dans le tableau 2.

Les caractéristiques pour lesquelles le traitement hormonal voit ses effets modulés selon le sexe des animaux sont la teneur en matières sèches, la stabilité des protéines musculaires (AED), l'équipement isoenzymatique de la myosine et les temps de relaxation.

La réduction de la matière sèche sous l'effet des anabolisants est en effet plus marquée chez les mâles que chez les femelles. De même les temps de relaxation du proton T₁ et T_{2a} sont réduits chez les mâles comme cela a été observé par Valin et al. (1984). Seule la stabilité des protéines appréciée par la variation ΔH d'enthalpie de dénaturation semble indiquer une différence liée aux anabolisants plus marquée chez les femelles.

Caractéristiques mesurées	Mâles (n = 12) (1)		Femelles (n = 12) (1)	
	Témoins (n = 6) (2)	Hormonés (n = 6) (2)	Témoins (n = 6) (2)	Hormonés (n = 6) (2)
Matière sèche (%)	23,75 (0,43) ^a	23,28 (0,30) ^b	24,56 (0,35) ^c	24,19 (0,21) ^c
Collagène (% MS)	2,139 (0,141) ^a	2,054 (0,379) ^{ab}	1,729 (0,200) ^b	1,851 (0,110) ^b
Tension (N.cm ⁻²)	142,6 (22,5) ^a	128,0 (17,0) ^a	153,5 (25,7) ^a	125,5 (22,9) ^a
ΔH (J/g MS)	15,24 (0,99) ^{ab}	15,69 (0,78) ^a	14,79 (0,42) ^b	15,42 (0,51) ^a
Myo iso I (%)	15,8 (2,0) ^{ab}	17,5 (1,2) ^a	16,6 (2,3) ^{ab}	15,0 (1,5) ^b
Myo iso II (%)	3,43 (1,7) ^a	32,5 (1,3) ^{ab}	33,2 (1,4) ^a	31,5 (0,8) ^b
Myo iso III (%)	38,7 (2,9) ^a	37,0 (2,0) ^a	37,6 (3,2) ^a	38,7 (2,6) ^a
Myo iso IV + V (%)	11,2 (2,6) ^a	13,0 (1,7) ^{ab}	12,7 (2,8) ^{ab}	14,8 (2,2) ^b
T ₁ (ms)	428,7 (11,7) ^a	423,1 (6,0) ^a	423,1 (13,7) ^a	425,5 (9,5) ^a
T _{2a} (ms)	46,9 (1,6) ^a	46,2 (1,8) ^a	45,5 (1,4) ^a	44,7 (1,3) ^a
T _{2b} (ms)	126,8 (6,1) ^{ab}	134,9 (5,8) ^a	123,3 (7,7) ^b	134,7 (6,5) ^{ab}

Tableau 2 : Comparaison de l'effet hormonal pour les 2 sexes : valeurs moyennes (écarts-types) par lot. Des indices différents d'une même ligne indiquent une différence significative entre lots au seuil P < 0,05. Différents sous-indices sur la même ligne réfèrent à une différence significative entre groupes (1, 2) : 12 veaux (1) et 6 veaux (2) ; pour les mesures RMN : 6 veaux (1) et 4 veaux (2). Anabolic treatment effect on both sex groups : mean values (stand. dev) for each group. Different subscripts on the same line refer to a significant (P < 0,05) difference between groups (1, 2) : 12 veals (1) and 6 veals (2) for the first 8 characteristics ; 6 (1) and 4 (2) veals for the RMN measurements.

En ce qui concerne la distribution des isoenzymes de la myosine, les isoenzymes V et II sont influencés de la même manière par le traitement anabolisant quel que soit le sexe (diminution de l'isozyme II et augmentation de l'isozyme V), alors que les isoenzymes I et III semblent indiquer un effet différent des anabolisants selon le sexe.

3 - Relations entre caractéristiques musculaires et pouvoir discriminant

Le tableau 3 rapporte la matrice des corrélations entre les divers paramètres mesurés sur l'ensemble des animaux expérimentaux.

Parmi les paramètres de composition significativement corrélés entre eux nous pouvons souligner la relation négative entre matière sèche et teneur en collagène qui reflète essentiellement le fait que les fortes teneurs en matière sèche des muscles des femelles sont associées à une teneur en collagène plus faible. De même les relations entre critères de composition (matière sèche) et critères qualitatifs tels que ΔH ou T_{2a} et T_{2b} reflètent la différence importante de teneur en eau selon le sexe.

La corrélation négative entre stabilité du collagène (tension) et T_{2b} (r = -0,63) semble par contre indiquer que la différence de teneur en eau des muscles n'explique pas à elle seule les différences enregistrées sur T_{2b}. Ce dernier paramètre est également corrélé à l'intensité de la dénaturation des protéines musculaires par chauffage (ΔH).

En ce qui concerne l'équipement en isoenzymes de la myosine, les corrélations entre isoenzymes sont essentiellement dues au mode d'expression utilisé (composition relative). Par contre les relations avec d'autres paramètres musculaires

en particulier T₁ avec l'isozyme I (r = -0,43) et l'isozyme III (r = 0,53) et T_{2b} avec l'isozyme II (r = -0,39) semblent conforter l'idée que la nature des protéines, en particulier myofibrillaires, est susceptible d'influencer les temps de relaxation.

Caractéristiques	MS	Coll	Tens	ΔH	I	II	III	IV + V	T ₁	T _{2a}	T _{2b}
Matière sèche (%)	-	***	*	***	NS	NS	NS	NS	NS	*	**
Collagène (% MS)	-0,52	-	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	**
Tension (N.cm ⁻²)	0,30	0,19	-	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	***
ΔH (J/g MS)	-0,48	0,17	-0,37	-	NS	NS	NS	NS	*	NS	***
Myo iso I (%)	-0,25	0,03	-0,10	0,21	*	***	*	***	**	NS	NS
Myo iso II (%)	0,00	0,17	0,01	-0,16	-0,34	-	*	***	NS	NS	*
Myo iso III (%)	0,20	-0,01	0,03	-0,17	-0,83	0,36	-	***	**	NS	NS
Myo iso IV + V (%)	-0,01	0,15	0,02	0,08	0,30	-0,71	-0,68	-	NS	NS	NS
T ₁ (ms)	-0,09	0,11	0,04	0,33	-0,43	0,12	0,53	-0,29	-	***	NS
T _{2a} (ms)	-0,37	0,37	0,25	0,11	-0,07	0,03	0,19	-0,19	0,62	-	NS
T _{2b} (ms)	-0,34	0,48	-0,63	0,63	0,06	-0,39	0,09	0,00	0,31	0,19	-

Tableau 3 : Matrice des corrélations (R, triangle inférieur) entre caractéristiques musculaires : 2 x 24 données pour les relations entre les 8 premiers paramètres, 2 x 16 données pour les relations faisant intervenir les paramètres RMN. Les seuils de signification des corrélations (triangle supérieur) sont : P < 0,001 (***), P < 0,01 (**), P < 0,05 (*), P < 0,05 (NS). Correlation matrix (R values, lower triangle) for muscle characteristics : 2 x 24 data for correlations within the first 8 parameters, 2 x 16 data for the remaining relations. Correlation significance (upper triangle) is P < 0,001 (***), P < 0,01 (**), P < 0,05 (*), P < 0,05 (NS).

Une analyse factorielle discriminante sur les 4 lots (2 sexes, 2 traitements) avec l'ensemble des critères analysés sur les 18 animaux pour lesquels toutes les analyses étaient disponibles aboutit à un pourcentage d'animaux bien classés de 100 %. Les variables discriminantes du 1er axe dont la contribution à l'inertie totale est de 40 %, sont les isoenzymes V et II et T_{2a}, elles permettent de distinguer nettement les muscles du lot femelles-hormonés. Le second axe (34 % de l'inertie totale) est représentatif de la teneur en collagène, de ΔH et de la matière sèche et discrimine les 2 lots témoins mâles et femelles. Enfin le 3e axe (26 % de l'inertie totale) sur lequel se projettent le mieux T_{2b}, la matière sèche et l'isoenzyme I, permet de reconnaître le lot des animaux mâles hormonés.

La discrimination selon le sexe (2 groupes) est aisée (100 % de bien classés) sur la base de la matière sèche et de la teneur en collagène. Le pourcentage d'individus bien classés n'est que de 94 % lorsque l'on essaie de discriminer les groupes témoins et hormonés indépendamment du sexe ; les variables les plus discriminantes étant la matière sèche, la tension isométrique et l'équipement isoenzymatique (isozymes II et V) de la myosine. Il apparaît donc globalement que pour les animaux étudiés les paramètres mesurés sont de meilleurs indicateurs de l'effet sexe que de l'effet anabolisants.

Discussion - Conclusion

La plupart des résultats concernant l'effet des anabolisants sur la qualité de la viande de veau ont été obtenus sur des veaux mâles. Les différences significatives de teneur en eau et en collagène rapportées dans cette étude entre mâles et femelles sont donc à souligner ; il est cependant vraisemblable que compte tenu de la faible stabilité thermique du collagène dans cette tranche d'âge (Kopp, 1976), la tendreté après cuisson ne soit que peu affectée par de telles différences.

A vitesse de croissance comparable entre témoins et hormonés, le traitement anabolisant modifie la teneur en eau du muscle chez le mâle, cet effet est net plus net que celui rapporté par Valin et al. (1977) sur des veaux de caractéristiques comparables. Pour les femelles l'incidence moins nette du traitement n'a pas été rapportée à notre connaissance.

Nous n'avons pas enregistré dans cette expérience d'augmentation de la teneur en collagène sous l'effet des anabolisants comme cela a été le cas pour Valin et al. (1977) et Verbeke et al. (1975). La diminution de la stabilité du collagène observée sur le tissu épimysial pourrait correspondre à une moindre répartition comme cela a été décrit chez des animaux plus âgés (9 à 13 mois) pour lesquels la maturité sexuelle s'accompagne au moins chez le mâle d'une augmentation de la solubilité du collagène musculaire (Kopp et Bonnet, 1982). L'incidence du traitement hormonal sur la répartition des isoenzymes de la myosine se traduit par une faible augmentation des isoenzymes lents (IV et V) chez les mâles et les femelles ce qui corrobore les résultats de Clancy et al. (1984) et Valin et al. (1984) obtenus chez le mâle et une diminution de l'hétérodimère II (I₁ - LC₂). Ces auteurs rapportent parallèlement une diminution de l'isozyme rapide I (2°LC₂) que nous ne retrouvons ici que pour les veaux femelles. La tendance que nous notons d'après nos résultats correspond donc à un glissement vers un type contractile plus lent sous l'effet des anabolisants.

En ce qui concerne les temps de relaxation, nous retrouvons ici la même tendance ce à la diminution de T₁ et T_{2a} que Valin et al. (1984) avec les anabolisants. L'augmentation nette de T_{2b} pour les 2 sexes pourrait en partie être expliquée par une plus grande teneur en eau des muscles d'animaux hormonés mais comme elle suggère l'analyse des corrélations entre variables mesurées, d'autres éléments (nature des protéines) semblent également pouvoir contribuer à la variation de T_{2b}. Enfin la signification de l'augmentation de ΔH n'est pas clairement établie.

En conclusion, notre étude indique que les paramètres de constitution sont en premier lieu affectés par le sexe des animaux (teneur en eau, teneur en collagène). Le traitement hormonal affecte uniformément les sexes au niveau de la qualité des protéines de structure : stabilité du collagène et proportion des isoenzymes lents de la myosine et T_{2a} ; des effets différents selon le sexe apparaissent pour les isoenzymes rapides (I), pour T₁ et pour la teneur en eau.

Lorsque les vitesses de croissances des animaux témoins et hormonés sont comparables, les observations sont donc essentiellement les mêmes, quoique moins prononcées, que lorsque le traitement anabolisant entraîne effectivement une augmentation de la vitesse de croissance.

Références

Bergman, I., Löxley, R. 1963 *Anal. Chem.*, **35**, 1961.
 Bonnet, M., Kopp, J. 1984 *Cahier des Techn. INRA*, **5**, 19.
 Clancy, M.J., Lester, J.M., Roche, J.F. 1984 *In Manipulation of growth in farm animals*. Roche, J.F., O'Callaghan, P. Editors. Martinus Nijhoff Publishers.
 Farrar, T.C., Becker, E.D. 1971 *Pulse and fourier transform NMR*. Academic Press.
 Hoh, J.F.Y. 1975 *Biochemistry*, **14**(4), 742.
 Kopp, J., 1976 *Bull. Techn. CRZV - Theix, I.N.R.A.*, **24**, 37.
 Kopp, J., Bonnet, M. 1982 *Bull. Techn. CRZV - Theix, I.N.R.A.*, **48**, 34.
 Kopp, J., Salé, P., Bonnet, Y. 1977 *Can. Inst. Food Sci. Techn. J.*, **10**, 68.
 Valin, C., Lacourt, A., Renner, M., Touraille, C., 1977 *L'aliment. et la Viande*, **65**, 3.
 Valin, C., Renner, M., Touraille, C., Kopp, J., Sornay, J. 1978 *Ann. Nutr. Aliment.*, **32**, 857.
 Valin, C., Touraille, C., Zabar, M., Renou, J.P., 1984 *30e Congrès Européen des Chercheurs en Viande - Bristol*.
 Verbeke, R., Debackere, M., Hicquet, R., Lauwers, H., Pottier, G., Stevens, J., Van Moer, D., Van Hoof, J., Vermeersh, G. 1975 *In Anabolic Agents in Animal Production* (IV, 1, 123) FAO/WHO Symposium - Rome. G. Thieme Publishers - Stuttgart.