

IMPORTANCE DU GÉNOTYPE DE LA DONNEUSE ET DE LA RECEVEUSE POUR LA PRODUCTION ET LE TRANSFERT D'EMBRYONS CHEZ LA TRUIE.

Françoise MARTINAT - BOTTÉ, Martine PLAT, R. PROCUREUR, P. DESPRÉS, A. LOCATELLI.

Institut National de la Recherche Agronomique
Station de Physiologie de la Reproduction, 37380 Nouzilly.

L'étude avait pour but de rechercher une action éventuelle du génotype des truies donneuses et receveuses sur la réussite du transfert dans l'oviducte ou dans la lumière utérine.

Les femelles cycliques Large White de la lignée « hyperprolifique » (LWh, n= 93) ou Meishan (MS, n = 54) donneuses d'oeufs ou d'embryons sont synchronisées par du Régumate pendant 6 ou 18 jours (Jo : jour d'arrêt du Régumate). Un traitement de superovulation est administré à toutes les donneuses : 1000 ou 1500 UI de PMSG à j₁, suivi 79 h après d'une injection de 500 UI d'hCG. Une double insémination est réalisée les j₅ et j₆, les LWh sont inséminées avec de la semence MS et vice versa. Les oeufs de 24 h sont récoltés à j₇, par perfusion des deux oviductes et reçoivent une microinjection d'ADN étranger. Les embryons sont récoltés entre j₁₀ et j₁₃ par perfusion des cornes utérines. Les oeufs fécondés ou les embryons sont remis par voie chirurgicale, dans un oviducte ou dans une corne utérine, 5 à 39 oeufs / receveuse, 9 à 25 embryons / receveuse. Les receveuses MS (n= 97) ou LW (n = 14) sont synchronisées avec les donneuses par traitement Régumate. Une supplémentation progestative est donnée pendant 10 jours à partir de 1 à 4 jours après le transfert.

Pour une même dose de PMSG-1500 UI - le taux d'ovulation, le nombre moyen d'oeufs ou d'embryons varient en fonction du génotype (LWh : 50 CL et 46 oeufs / donneuse ; MS : 27 CJ et 20 oeufs / donneuse). Le transfert dans l'oviducte ou dans l'utérus permet d'obtenir des taux de gestation similaires : 70 à 80 %. Chez les MS, le taux de gestation après transfert d'oeufs est plus élevé (77%) que chez les LW (43%) mais la survie embryonnaire est identique (44 vs 46%). Lorsque les embryons sont au stade morula ou blastocyste non éclos, 92% des femelles sont gravides, 9 à 10 embryons / receveuse permettent d'obtenir une survie correcte : 78%. Les chances de succès des transferts sont réduites lorsque les embryons sont sortis de leur zone pellucide.

The effect of genotype of donor and recipient gilts on embryo transfer

The aim of this work was to determine the influence of genotype of donor and recipient gilts on the efficiency of embryo recovery and subsequent transfer into the oviduct or the uterine lumen.

Fertilized eggs or embryos were recovered from hyperprolific Large White (LWh, n = 93) and Meishan (MS, n = 54) cyclic gilts which had been synchronized by 6 or 18 days treatment with Regumate (D₀ = end of the treatment). The donors received 1000 or 1500 iu PMSG on D₁ and 500 iu hCG 79 h later (D₄). LWh gilts were inseminated twice with MS semen on D₅ and D₆ and vice versa for MS gilts. Eggs and embryos were recovered by flushing the oviducts (D₇) and uterine horns (D₁₀ & D₁₃), respectively. The eggs were microinjected with DNA. Surgical transfer was performed in an oviduct (eggs) or an uterine horn (embryos), 1 to 5 hours after recovery. Recipients (LW, n = 14; MS, n = 97) were synchronized with donors. A 10 day progestagen treatment beginning 1 to 4 days after transfer, was given to each recipient.

At 1500 iu PMSG, the ovulation rate and the mean number of eggs or embryos recovered in LWh was twice that of MS (LWh : 50 + 22 CL, 46 + 23 eggs / donor vs MS : 27 + 10 CL, 20 + 7 eggs / donor). Transfer was similarly successful into either the oviduct (70 %) or the uterine horn (80 %). After egg transfer, the pregnancy rate was higher in MS (77%) than in LW (43%) but embryonic survival was similar (44 vs 46%). 92% of the MS recipients were pregnant on D₃₀ when morulas or unhatched blastocysts were transferred. 9 to 10 embryos per recipient resulted in higher embryo survival (78%). The poor results were obtained when the hatched blastocysts were transferred (33%).

In conclusion, LWh gilts were more efficient donors than MS whilst MS gilts were better recipients than LW.

INTRODUCTION

Chez la truie, les oeufs fécondés séjournent environ deux jours dans les oviductes. Ils entrent dans l'utérus à partir du 3ème jour après le début de l'oestrus. La manipulation d'oeufs fécondés ou d'embryons que nécessitent les programmes de transgénèse, suppose la maîtrise de leur transfert dans l'oviducte ou la lumière utérine. Les résultats obtenus après de tels transferts sont rapportés dans cet article. Cette étude avait aussi pour but de rechercher une action éventuelle du génotype des truies donneuses et receveuses sur la réussite du transfert d'oeufs fécondés ou d'embryons. En effet, les femelles Large White de la lignée I.N.R.A. «hyperprolifique» (LEGAULT & GRUAND 1976) ovulent plus que les animaux Meishan ou Large White. De plus, la survie embryonnaire est toujours plus élevée chez les femelles Meishan que chez les truies Large White (TERQUI et al. 1990).

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cette étude a été réalisée à l'élevage expérimental de l'INRA de Nouzilly (37380) avec des jeunes truies cycliques, âgées de 5 à 8 mois, appartenant à différents génotypes : Meishan (MS), Large White «hyperprolifique » (LWh) et Large White (LW).

1.1. Production et récolte d'oeufs ou d'embryons

Les femelles donneuses d'oeufs fécondés (stade deux pronuclei) ou d'embryons (stade morula ou blastocyste éclos ou non) sont des cochettes MS (n = 54) ou LWh (n = 93).

1.1.1. Synchronisation des oestrus et superovulation (Figure 1)

Les oestrus des donneuses sont synchronisés à l'aide d'un traitement progestatif (Régumate, 20mg/j./femelle), administré par voie orale et commencé au cours du second ou du troisième cycle oestrien. La durée du traitement est variable : 6 jours pour des femelles chez qui le traitement débute en fin de phase lutéale (entre le 12ième ou 14ième jours du cycle oestrien) ou 18 jours (le début commence alors à n'importe quel moment du cycle). Le traitement de superovulation est administré après le traitement de synchronisation du progestagène (J₀ = jour d'arrêt du Régumate) .

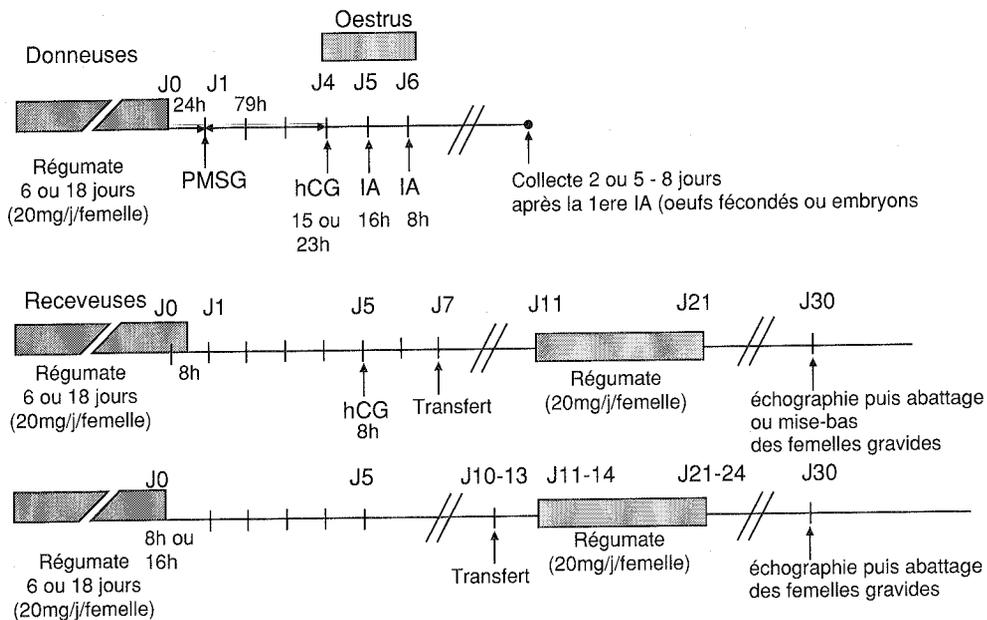
Toutes les donneuses reçoivent exactement 24 heures après l'arrêt du Régumate (J₁) une injection intra-musculaire de 1000 ou 1500 UI de PMSG, puis, 79 heures plus tard, une injection de 500 UI d'hCG.

1.1.2. Insémination

La détection des chaleurs est faite deux fois par jour à l'aide d'un verrat. Les truies donneuses sont inséminées deux fois systématiquement, qu'elles soient en oestrus ou non, à j₅ et j₆ (Figure 1).

Les femelles LWh et MS sont inséminées respectivement avec la semence (6.10⁹ spermatozoïdes / donneuse) de verrats MS et LW pour produire des oeufs ou des embryons de génotype croisé ce qui devrait permettre aussi de bénéficier de la vigueur hybride.

Figure 1 - Schéma des traitements appliqués aux cochettes pour la production d'oeufs fécondés ou embryons



1.1.3. Récolte des oeufs ou des embryons

L'appareil génital des truies donneuses est prélevé dans les minutes qui suivent leur abattage.

Les oeufs fécondés sont récoltés 2 jours après la 1ère insémination (49 à 63 heures après hCG) par perfusion des deux oviductes avec du PBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Sa-

line) à 37 °C additionné de 2% de sérum de boeuf. Les oeufs sont ensuite transférés dans du mKRB (modified Krebs Ringer Bicarbonate medium; DAVIS & DAY, 1978) à température ambiante puis centrifugés (8 minutes à 15000 g) pour rendre visibles les pronuclei ou les noyaux. Seuls les oeufs présentant deux pronuclei ou deux noyaux reçoivent une microinjection d'ADN étranger dans le cadre d'un programme de transgénèse. Cette opération est réalisée sous microscope inversé (con-

traste interférentiel, grossissement x 400). Après l'injection, les oeufs sont transférés dans l'un des oviductes d'une femelle receveuse.

Les embryons sont récoltés 5 à 8 jours après la première insémination, par perfusion des cornes utérines avec du PBS additionné de 2% de sérum. La viabilité des embryons (jugée à la loupe binoculaire, grossissement x 10) est appréciée en fonction de critères morphologiques : embryons non fécondés ou retardés (1 à 8 cellules), morulas présentant une segmentation régulière ou non, blastocystes inclus ou non dans leur zone pellucide. Seuls les morulas régulières, blastocystes éclos ou non sont conservés et maintenus quelques heures dans du PBS à température ambiante jusqu'à leur transfert dans une truie receveuse.

1.2. Transfert

Les transferts des oeufs fécondés ont été réalisés chez des receveuses MS (n = 52) ou LW (n = 14), ceux des embryons, uniquement chez des receveuses MS (n = 45).

1.2.1. Synchronisation des oestrus

Les oestrus des truies receveuses sont synchronisés à l'aide d'un traitement progestatif (Régumate, 20 mg / j. / femelle, par voie orale, pendant 6 ou 18 jours) commencé au cours d'un second ou troisième cycle oestrien. Le traitement progestatif est retardé de 12 h par rapport aux donneuses, pour les receveuses d'oeufs fécondés. Une injection de 500 UI d'hCG est réalisée à 8 heures le j₅.

Par contre, aucun décalage n'est réalisé chez les receveuses d'embryons qui, en outre, ne reçoivent aucun traitement hormonal à l'arrêt du progestagène.

Aucune receveuse n'a été inséminée.

1.2.2. Réalisation des transferts

Juste avant le transfert, les oeufs ou les embryons contenus dans 0,1 ml de milieu, sont introduits, à l'aide d'une seringue de 1ml dans un cathéter stérile et souple. 2 à 5 heures après la récolte, les oeufs fécondés sont remis dans un oviducte à raison de 5 à 39 oeufs / receveuse; les embryons sont placés dans une corne utérine à raison de 9 - 10, 14 - 15 ou 20 - 25 embryons par receveuse.

Le transfert est effectué par voie chirurgicale, sous anesthésie générale gazeuse en circuit fermé par inhalation d'un mélange d'oxygène et d'halothane. Une partie du tractus génital est extériorisée par ouverture abdominale médiane sous ombilicale. Avant d'effectuer le transfert, l'opérateur vérifie que la receveuse a ovulé. Pour le transfert d'oeufs fécondés, le cathéter est introduit par le pavillon dans la lumière de l'oviducte et poussé doucement sur 5 centimètres environ ; les oeufs sont expulsés à l'aide de la seringue. S'il s'agit d'embryons, ils sont remis en haut d'une des cornes utérines, quelques centimètres après la jonction utéro-tubaire, en passant par une petite incision de la paroi utérine.

La fermeture abdominale s'effectue en deux plans, le péritoine, les muscles puis les aponévroses et le plan grasseux. Enfin, la peau est maintenue par des agrafes.

1.2.3. Apport progestatif post-transfert, diagnostic de gestation

Une supplémentation progestative de Régumate est donnée

pendant 10 jours (20 mg / j.), à partir de 1 à 4 jours après le transfert. Des résultats antérieurs (non publiés) ont montré, en effet, que ce traitement permettait d'améliorer l'implantation des plus petites portées. Toutes les receveuses qui n'ont pas eu de retour en oestrus dans les 30 jours après le transfert, subissent une échographie d'ultrasons afin de confirmer ou d'infirmer leur gestation présumée.

1.3. Collecte des données et analyse statistique

Pour chaque donneuse, les corps jaunes et les oeufs ou les embryons récoltés ont été dénombrés pour calculer l'efficacité de la collecte (% d'oeufs ou d'embryons par rapport au nombre de corps jaunes).

Le succès du transfert a été évalué soit après abattage des receveuses à 30 jours de gestation par dénombrement des foetus (transferts d'oeufs ou d'embryons) soit après mise bas (transferts d'oeufs seulement). La survie embryonnaire a été calculée : c'est le pourcentage de foetus ou de porcelets retrouvés par rapport au nombre d'oeufs ou d'embryons déposés.

Les différences des taux de gestation et de survie embryonnaire à 30 jours ont été analysées à l'aide du test de χ^2 ; celles des taux d'ovulation et des nombres moyens d'oeufs ou d'embryons collectés ont fait l'objet d'analyse de variance.

2. RÉSULTATS

2.1. Oestrus chez les truies donneuses et receveuses

Chez les truies donneuses (n = 147), l'oestrus est survenu entre j₃ et j₆ après l'arrêt du Régumate, 87% d'entre elles ont présenté un oestrus à j₄ et j₅. 14 femelles n'ont pas présenté de comportement d'oestrus, une seule n'avait pas ovulé au moment de l'examen de l'appareil génital. Aucune différence n'est observée selon les génotypes (LW, MS) et la dose de PMSG (1000 ou 1500 UI).

Chez les truies receveuses, la venue en oestrus est plus groupée chez les femelles (n = 66) recevant une injection d'hCG, j₄ et j₅, que chez celles (n = 45) qui n'en ont pas reçu, j₄ et j₇. 3 femelles n'ont pas eu d'oestrus mais elles avaient ovulé au moment du transfert.

2.2. Production et récolte d'oeufs ou d'embryons

2.2.1. Ovulations

Sur l'ensemble des truies donneuses (n = 143), il a été compté sur les deux ovaires 35 ± 15 corps jaunes (extrêmes : 5 et 111). Le taux d'ovulation varie significativement en fonction de la dose de PMSG utilisée: 31 ± 9 (m ± sd) avec 1000 UI de PMSG et 50 ± 22 avec 1500 UI (p < 0,01) chez les femelles LW. Pour la même dose de PMSG, 1500 UI le taux d'ovulation est deux fois plus élevé chez les femelles LW, 50 ± 22, que chez les MS, 27 ± 10, (p < 0,01).

2.2.2. Etat des oeufs et des embryons au moment de la récolte

Le taux de collecte des oeufs fécondés est en moyenne de 82 % ; il est plus faible pour les embryons : 72 % (p < 0,01).

Le nombre moyen d'oeufs récoltés varie en fonction de la dose de PMSG et du génotype. Chez les LW, plus d'oeufs ou

d'embryons sont récoltés après 1500 UI de PMSG qu'après 1000 UI ($p < 0,01$, Tableau 1). Après 1500 UI de PMSG, le nombre moyen d'oeufs récoltés est doublé chez les LWh , par comparaison aux MS ($p < 0,01$). Au moment de la collecte, 90 % environ des oeufs fécondés sont au stade d'une cellule sans différence significative selon la dose de PMSG ou le

génotype des truies (Tableau 1).

Parmi les embryons récupérés entre 5 et 8 jours après l'insémination, 79 % étaient au stade désiré : morula , blastocyste éciols ou non. Les autres, 21%, étaient soit dégénérés soit retardés (2 à 8 cellules). Il a donc été collecté , en moyenne , 34 embryons dont 27 étaient jugés transférables.

Tableau 1 - Production et collecte d'oeufs fécondés ou d'embryons après un traitement progestatif associé à une stimulation ovarienne (PMSG + hCG).

	Oeufs fécondés		Embryons	
	Nombre moyen récoltés/donneuse	% à 1 cellule	Nombre moyen récoltés/donneuse	% au stade morula ou blastocyste
LWh (1)				
1000 UI PMSG	28 ± 8* (40)	91	/	/
1500 UI PMSG	46 ± 23 (21)	92	47±12 (30)	79
MS (2)				
1500 UI PMSG	20 ± 7 (52)	88	/	/

* m±sd , () Nombre de donneuses. (1) LWh : Large White " hyperprolifrique " (2) MS : Meishan.

2.3. Taux de gestation et survie embryonnaire après transfert

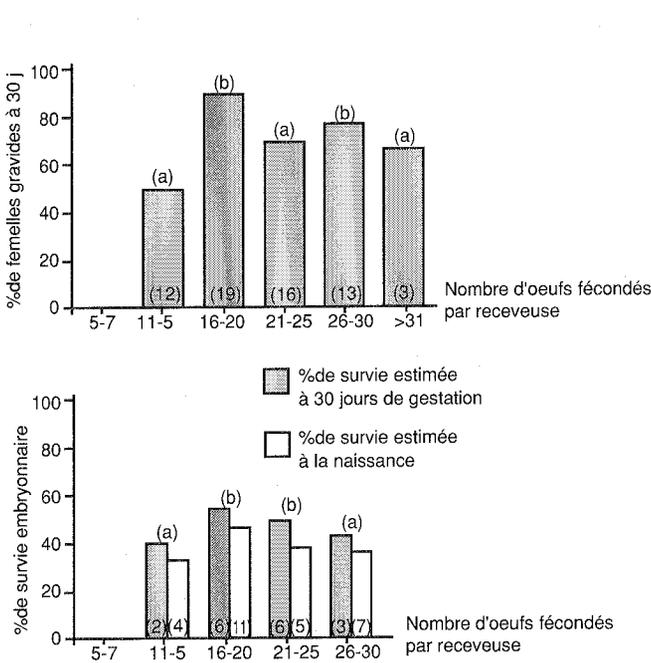
2.3.1 Transfert d'oeufs fécondés

Sur les 1550 oeufs fécondés microinjectés, 1026 seulement ont été transférés chez 66 receveuses (20 ± 6 oeufs par femelle, extrêmes : 5 et 39). Le taux de gestation globale, à 30 jours est de 70 % (n = 66) et la survie embryonnaire de 45 %. 29 receveuses ont donné naissance à 8.9±3.7 porcelets

(de 2 à 15 porcelets). Le nombre d'oeufs mis en place par receveuse interfère sur la réussite du transfert; les meilleurs résultats ont été obtenus pour la classe 16 - 20 oeufs par receveuse : 89 % de femelles gravides et 46 % de survie embryonnaire à 30 jours (Figure 2).

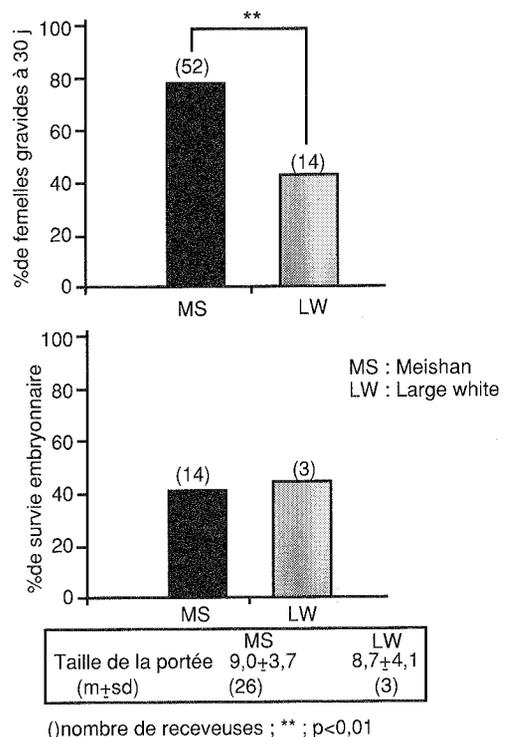
Le taux de gestation à 30 jours est significativement plus élevé chez les receveuses MS (77 %, n = 52) que chez les femelles LW (43 %, n = 14). La survie embryonnaire est la même quel que soit le génotype (44 vs 46 %). La taille de la portée à la naissance varie peu entre les receveuses MS et LWh (Figure 3).

Figure 2 - Effet du nombre d'oeufs transférés par receveuse sur la réussite des transferts (oeufs fécondés placés dans l'oviducte)



() nombre de receveuses MS et LW
 (a,b) les moyennes affectées de lettres différentes diffèrent au seuil de $p < 0,01$

Figure 3 - Effet du génotype de la receveuse sur la réussite des transferts d'oeufs fécondés (oeufs fécondés placés dans l'oviducte)



() nombre de receveuses ; ** ; $p < 0,01$

2.3.2. Transfert d'embryons

Sur les 910 embryons récoltés jugés transférables, 697 ont été remis dans 45 receveuses MS. Elles ont reçu de 9 à 25 embryons. Le taux moyen de gestation à 30 jours est de 80% et la survie embryonnaire de 60 %.

Les chances de succès des transferts sont réduites lorsque les embryons transférés sont sortis de leur pellucide, 33 % de femelles gravides (n = 9) et 26 % de survie embryonnaire à 30 jours. Par contre, si les embryons sont au stade morula ou blastocyste inclus dans la pellucide, le taux de gestation est de 92 % (n = 36), la survie embryonnaire de 63 % (Figure 4). Le nombre d'embryons par receveuse : 9 - 10, 14 - 15, 20 - 25, n'interfère pas significativement sur le taux de gestation. Par contre, la survie de ces embryons est significativement plus élevée pour la classe 9 - 10 que pour les autres classes (p < 0,01; Figure 5).

Le délai entre la collecte et le transfert des embryons ne modifie pas le taux de gestation (délai maximum de 4 heures). La majorité des transferts (39 sur 45) ont été réalisés chez des receveuses en oestrus synchrone ou en retard de 24 heures par rapport à la donneuse. Aucune différence n'est observée en fonction de ce paramètre dans les résultats de gestation et de survie.

DISCUSSION - CONCLUSION

La maîtrise de l'oestrus et de l'ovulation par le progestagène Régumate associé à un traitement de superovulation - PMSG + HCG - a permis de récolter des oeufs ou des embryons chez 143 cochettes sur les 147 traitées. Des rendements plus importants sont notés chez les donneuses d'oeufs fécondés LWh stimulées avec 1500 UI de PMSG, 50 ovulations, 46 oeufs collectés que chez des femelles MS : 27 ovulations et 20 oeufs récoltés. Une grande variabilité est observée chez les LWh, 18 à 111 ovulations, 7 à 109 oeufs collectés. Le rendement est plus faible chez les donneuses d'embryons LWh. Avec 1500 UI de PMSG bien que le nombre d'ovulations soit similaire (50) 34 embryons seulement sont récupérés dont 27 sont transférables (stade morula et blastocyste). Ce dernier résultat reste cependant plus élevé que ceux cités dans la littérature avec la même dose de PMSG - 1500 UI - soit après superovulation de femelles prépubères (19 embryons transférés, HOLTZ & SCHLIEPER, 1991) ou de femelles cycliques (14 à 19 embryons transférés, CAMERON et al 1989). Les études antérieures avaient montré que les jeunes truies cycliques LWh ovulaient spontanément plus que les Meishan (MARTINAT - BOTTÉ et al. 1990). Les résultats du présent travail indiquent qu'après superovulation, la femelle LWh est la mieux adaptée comme donneuse d'oeufs ou d'embryons.

Chez la truie, le transfert dans l'oviducte ou dans l'utérus permet d'obtenir des succès similaires puisqu'après transfert d'oeufs microinjectés ou d'embryons les taux de gestation sont de 70 et 80%. Ces résultats sont très comparables à ce que l'on observe dans les élevages avec des cochettes en conditions naturelles de reproduction.

Cette étude a permis de préciser les points suivants :

1) la femelle Meishan est la receveuse à retenir pour un meilleur succès du transfert d'oeufs ou d'embryons ceci par comparaison aux résultats de gestation obtenus chez les LW (77 % vs 43 %). Ce point corrobore nos

Figure 4 - Effet de l'âge des embryons sur la réussite des transferts (receveuses MS uniquement, embryons placés dans l'utérus)

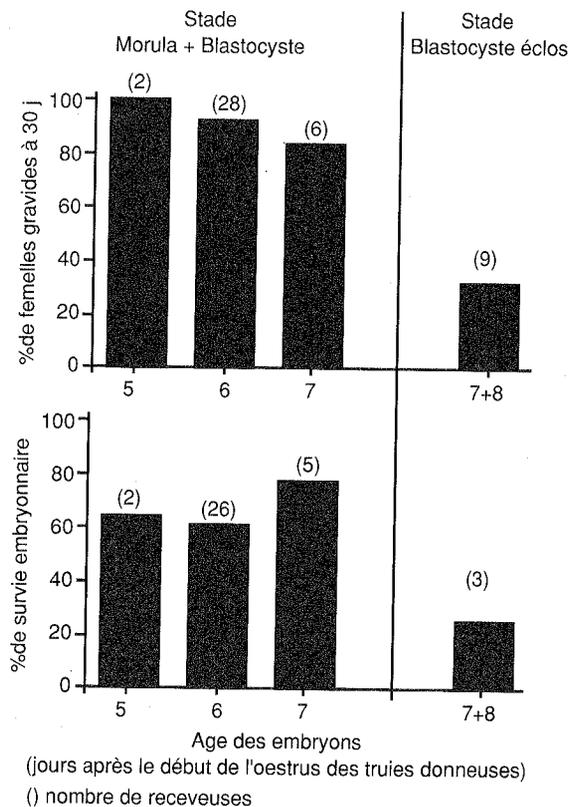
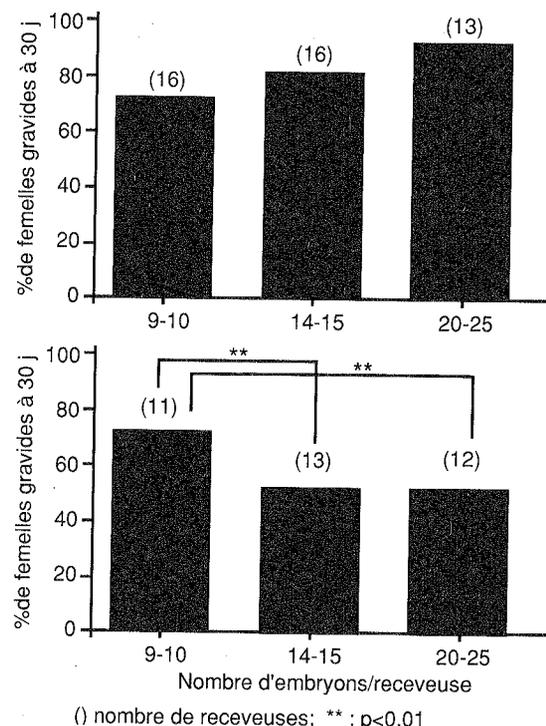


Figure 5 - Effet du nombre d'embryons par receveuse sur la réussite des transferts (receveuses MS uniquement, embryons placés dans l'utérus)



résultats sur les interactions utérus x embryon qui sont plus fortes chez la MS et permettent ainsi à un plus grand nombre d'embryons de s'implanter (80 à 90 % de survie embryonnaire sur oestrus naturel ; TERQUI et al, 1990)

2) le transfert de 16 à 20 oeufs microinjectés permet d'obtenir les meilleurs résultats en terme de taux de gestation (89 %) et de survie embryonnaire jusqu'à la naissance (42 %, Figure 3). Ces chiffres sont plus élevés que ceux cités dans la littérature après transfert de gènes par microinjection. En général, il est remis plus de 20 oeufs (20 à 50) ; le taux de gestation varie entre 25 et 60 % et seulement 5 à 20% des oeufs transférés donnent des porcelets (PURSEL et al, 1990).

3) le transfert d'embryons est plus difficile lorsque les blastocystes sont sortis de leurs pellucides bien que la receveuse soit MS. Ces résultats confirment ceux de POLGE (1982).

4) le transfert de blastocystes inclus dans la pellucide chez des receveuses MS a été réalisé avec des rendements élevés : 92 % de cochettes gravides et

63% de survie. 9 à 10 embryons par receveuse a permis d'obtenir une survie embryonnaire (78 %) proche des conditions naturelles (85 % en moyenne). Les chiffres correspondants cités dans la littérature varient entre 35 % et 65 % (JAMES et al, 1983 ; CAMERON et al, 1989 ; POLGE, 1982).

En conclusion, il ressort de ces études que chez la truie, le choix du génotype de la donneuse et de la receveuse, le choix de la technique de production des embryons et de leur maintien, sont des points très importants pour améliorer la production et le transfert d'oeufs ou d'embryons en particulier, dans le cadre d'un programme de transfert de gènes.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le personnel de l'élevage porçin et celui de l'hôpital (I.N.R.A., Physiologie de la Reproduction, 37380 Nouzilly) pour leur collaboration efficace lors de la réalisation de cette étude.

Nos remerciements vont aussi à Mr. COUROT (I.N.R.A.) pour ses précieux conseils et suggestions.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CAMERON R.D.A., DURACK M., FOGARTY R., PUTRA D.K.H., Mc VEIGH J., 1989, Australian Veterinary Journal, 66, 314 - 318.
- DAVIS D.L., DAY B.N., 1978, J. Anim. Sci., 46, 1043 - 1053.
- HOLTZ W., SCHLIEPER B., 1991, Theriogenology, 35, 1237 - 1249.
- JAMES J.E., JAMES D.M., MARTIN P.A., REED D.E., DAVIS D.L., 1983, J.A.V.M.A., 183, 525 - 528.
- LEGAULT C., GRUAND J., 1976, Journées Rech. Porcine en France, 8, 201 - 206.
- MARTINAT - BOTTE F., BAZER F.W., TERQUI M., 1990, Proceeding of the 3rd Int. Conf. on *Pig Reproduction*, abstract n° 45.
- POLGE C., 1982, In : *Control of Pig Reproduction*, pp 277 - 291, Eds D.J.A. COLE & G.R. FOXCROFT, Butterworth Scientific, London.
- PURSEL V.G., BOLT D.J., MILLER K.F., PINKERT C.A., HAMMER R.E., PALMITER R.D., BRINSTER R.L., 1990, J. Reprod. Fert., Suppl 40, 235 - 245.
- TERQUI M., BAZER F.W., MARTINAT - BOTTE F., 1990, Proceeding of *Chinese Pig Symposium*, Toulouse, pp 19 - 32. Eds M. MOLENAT & C. LEGAULT, I.N.R.A., Paris.