

UNA MENOR OFERTA DE CAMPO NATURAL GESTACIONAL AFECTA EL DESARROLLO MUSCULAR FETAL-NEONATAL Y REPERCUTE SOBRE EL PESO Y LA COMPOSICIÓN FIBRILAR EN CORDEROS PESADOS

J. Ithurralde¹; M.J. Abud¹; P. Genovese²; F. Corrales¹; R. Pérez-Clariget¹, A. Bielli²

RESUMEN

El presente estudio evaluó los efectos de una subnutrición materna inducida por una menor oferta de forraje de campo natural sobre las características histológicas del músculo Semitendinoso de corderos. Se llevaron a cabo dos experimentos. En el experimento 1, las ovejas fueron asignadas a dos tratamientos nutricionales desde 23 días antes de la concepción hasta el día 123 de gestación: las ovejas con alta oferta de forraje (AOF) pastoreaban campo natural con 10-12 kg de materia seca (MS) / 100 kg de peso vivo (PV) / día, mientras que las ovejas de baja oferta (BOF) pastoreaban a 5-8 kg DM / 100 kg de PV / día. En el experimento 2, las ovejas fueron asignadas a dos ofertas de forraje entre los días 30 y 143 de gestación: las ovejas AOF pastoreaban sobre campo natural a 14-20 kg de MS / 100 kg de PV / día; mientras que las ovejas BOF pastoreaban a 6-10 kg de DM / 100 kg de PV / día. En el experimento 1, se tomaron muestras de fetos de 70 días y corderos recién nacidos para evaluar la histología muscular, mientras que en el experimento 2 se tomaron muestras a partir del día 200 de edad de los corderos pesados que fueron alimentados *ad libitum* desde el parto hasta el sacrificio. La subnutrición materna redujo el número de fibras secundarias y el número de núcleos / fascículos en los músculos fetales. La subnutrición materna redujo el diámetro medio de la fibra y el número de núcleos por fibra y aumentó la proporción de tejido no muscular en corderos recién nacidos. Además, la subnutrición materna redujo el peso y aumentó la proporción de fibras oxidativas

en el músculo Semitendinoso de corderos pesados. Nuestros resultados sugieren que una menor asignación de forraje durante la gestación afecta la miogénesis con posibles efectos futuros sobre el rendimiento de la producción de carne.

Palabras clave: miogénesis, tipificación fibrilar, calidad de carne, ovinos.

ABSTRACT

The present study evaluated the effects of maternal undernutrition induced by a lower natural pasture allowance during gestation on the histological characteristics of fetal, neonatal and adult *Semitendinosus* ovine muscle. Two experiments were carried out. In experiment 1, ewes were assigned to two nutritional treatments from 23 days before conception until day 123 of gestation: High pasture allowance (HPA) ewes grazed on natural grasslands at 10-12 kg dry matter (DM)/100 kg of live weight (LW)/day, while low pasture allowance (LPA) ewes grazed at 5-8 kg DM /100 kg of LW/day. In experiment 2, ewes were assigned to two natural pasture allowances between days 30 and 143 of gestation: HPA ewes grazed on 14-20 kg of DM/100kg of LW/day; while LPA ewes grazed on 6-10 kg of DM/100 kg of LW/day. In experiment 1, samples were taken from 70-day old fetuses and newborn lambs to evaluate muscle histology, while in experiment 2 samples were taken from 200-day old heavy-lambs which were equally *ad libitum* fed from lambing until slaughtering. Maternal undernutrition reduced the number of

¹ Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay.

² Departamento de Morfología y Desarrollo, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay

secondary fibers and the number of nuclei/fasciculi in fetal muscles. Maternal undernutrition reduced the mean fiber diameter and the number of nuclei per fiber and increased the proportion of non-muscle tissue in newborn lambs. Furthermore, maternal undernutrition reduced the weight and increased the proportion of oxidative fibers in the *Semitendinosus* of heavy-lambs. Our results suggest that a lower maternal pasture allowance during gestation affects myogenesis with possible future effects over meat-producing performance.

Keywords: myogenesis, meat quality, sheep.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo y diferenciación de las fibras musculares (miogénesis) es un proceso complejo que involucra la migración, proliferación y fusión de mioblastos para formar precursores fibrilares que luego se diferencian en fibras maduras. En los ovinos la miogénesis involucra a dos precursores fibrilares principales: los miotubos primarios y las fibras fetales secundarias (Wilson *et al.*, 1992). La formación de fibras fetales secundarias supone un proceso de rápida producción masiva de fibras musculares. La cantidad de fibras secundarias rodeando a cada miotubo primario es decisiva sobre la masa muscular total, dado que éstas originan a la mayoría de las fibras musculares adultas (Picard *et al.*, 2002). Además, se ha sugerido que mientras la formación de miotubos primarios se encuentra regulada principalmente por factores genéticos, la cantidad de fibras fetales secundarias formadas está regulada por factores epigenéticos y ambientales, tales como la nutrición materna durante la gestación (Picard *et al.*, 2002).

Por otra parte, la subnutrición gestacional no solo es capaz de afectar el proceso de formación fibrilar sino que también altera su diferenciación (Lefaucheur y Gerrard, 2000), afectando la morfología y fisiología fibrilar y repercutiendo sobre la calidad del producto. El tipo predominante de fibra muscular así como sus características morfológicas repercuten

sobre la evolución *post mortem* muscular, influyendo la calidad del producto a través de mecanismos tales como el descenso del pH muscular o las actividades enzimáticas proteolíticas *post mortem* (Lefaucheur, 2010; Ithurralde *et al.*, 2018a). Normalmente se acepta que la subnutrición prenatal reduce el número de fibras secundarias fetales (Lefaucheur y Gerrard, 2000) y la cantidad de fibras rápidas-glicolíticas adultas. Sin embargo, la información respecto a la perpetuación de estos efectos hasta etapas posteriores del desarrollo ovino y la interacción entre programación fetal y sexo de la progenie es escasa y contradictoria (Sen *et al.*, 2016; Piaggio *et al.*, 2018).

La cría ovina uruguaya continúa siendo mayoritariamente extensiva, sobre campo natural y suelos marginales (Piaggio, 2014). Así, dada la variabilidad estacional de la producción de pasturas (Berretta *et al.*, 1994), la estacionalidad reproductiva y la duración de la gestación ovina, es esperable que las ovejas gestantes experimenten períodos de subnutrición durante la crisis invernal del campo natural, comprometiendo el desarrollo fetal y “programando” la potencialidad productiva de los futuros corderos. Por ende, es posible especular con que un descenso en la disponibilidad forrajera durante la gestación derive en períodos de subnutrición embrionaria-fetal, repercutiendo en el desarrollo muscular y afectando la productividad y la calidad de la carne de los corderos.

Los objetivos del presente trabajo fueron estudiar el efecto de una subnutrición gestacional inducida por una menor oferta de forraje de campo natural sobre el desarrollo muscular ovino fetal-neonatal así como sobre el peso y la composición fibrilar en el músculo *Semitendinosus* de corderos pesados de 200 días de vida.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo involucró la realización de dos experimentos. Experimento 1 (Exp.1): Evaluó el impacto de la restricción nutricional gestacional inducida por ofertas de forraje de campo natural diferentes sobre el desarrollo fetal y

neonatal del músculo *Semitendinosus*. Experimento. 2 (Exp. 2): Evaluó el efecto de la restricción nutricional gestacional inducida por ofertas de forraje de campo natural diferentes sobre el peso y las características fibrilares en el *Semitendinosus* de corderos pesados.

Localización

Ambos trabajos se llevaron a cabo en la Estación Experimental Bernardo Rosengurt (Facultad de Agronomía, Cerro Largo, 32°S). El Exp. 2 también implicó una fase de engorde intensivo de corderos en la Estación de Pruebas de la Facultad de Agronomía (Sayago, Montevideo). Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité de ética en el uso de animales de la UdelaR. En ambos trabajos se utilizaron ovejas Corriedale múltiples preñadas de fetos únicos.

Animales, tratamientos y muestreos

Experimento 1

El diseño experimental fue previamente publicado (Freitas de Melo *et al.*, 2015) y también se presenta en este libro en el capítulo “Efectos de la subnutrición durante la gestación sobre el desarrollo del aparato reproductor del cordero” (Bielli y Pérez-Clariget, 2019). Brevemente, se utilizaron 36 ovejas de una majada inicial de 335 a las que se les sincronizó el celo y fueron inseminadas con semen fresco de tres carneros Corriedale 12 horas después de la detección del celo (día 0). Treinta días después se confirmó la preñez y carga fetal (ultrasonografía transrectal), mientras que al día 60 de gestación se determinó el sexo fetal mediante la misma metodología. Las ovejas fueron asignadas al azar a dos ofertas de forraje de campo natural contrastantes: i) grupo alta oferta de forraje (AOF, n=18): las ovejas pastorearon sobre campo natural a 10 kg MS/100 kg peso vivo (PV)/ día - 12 kg MS/100 kg PV/día; ii) grupo baja oferta de forraje (BOF, n=18): las ovejas pastorearon sobre campo natural a 5 kg MS/100 kg PV - 8 kg MS/100 kg PV de oferta de forraje. Las ofertas de forraje se ajustaron mensualmente basándose en determinacio-

nes de disponibilidad realizadas mediante el método de doble muestreo (Haydock y Shaw, 1975). Con cada ajuste se determinó además la composición química (cenizas, proteína cruda, fibra detergente ácida y neutra) así como el consumo de acuerdo a la metodología descrita por Van Soest *et al.* (1991). Con el contenido energético y proteico del forraje se estimó qué porcentaje de los requerimientos proteicos y energéticos de las ovejas (NRC) estaban cubiertos por los tratamientos ofertados. Bielli y Pérez-Clariget (2019) en este libro presentan la disponibilidad y altura de la pastura, los requerimientos energéticos y proteicos cubiertos y la composición química de la misma (Cuadros 3 y 4, respectivamente de dicho capítulo). Cuando las ovejas tenían 70 días de gestación, 18 (9 por tratamiento y 3 por bloque) fueron sacrificadas utilizando faena humanitaria y sus fetos fueron removidos del útero. De ellos se tomó muestras del músculo *Semitendinosus* izquierdo, las cuales se fijaron en paraformaldehído bufferado al 4%. Tras el sacrificio, el resto de las ovejas continuaron en los mismos tratamientos hasta el día de la esquila (día 122 de gestación), cuando los tratamientos terminaron y las ovejas fueron transferidas a una pradera de *Festuca arundinacea* (oferta de forraje: 14%) donde pastorearon todas juntas hasta el parto. Desde 5 días antes de la esquila hasta el parto las ovejas fueron suplementadas en forma grupal: 200 gr de afrechillo de arroz (88% MS, 14% PC, 9% FDA y 24% FDN) y 50 mL de glicerina cruda (77% de glicerol) por día y por animal. Los corderos fueron sacrificados utilizando tiopental intravenoso 12 horas después de nacidos (9/tratamiento, 3/ parcela). Tras el sacrificio a cada cordero se le tomó muestras superficiales de la porción media del vientre del músculo *Semitendinosus* izquierdo, las cuales fueron fijadas en paraformaldehído bufferado al 4%.

Experimento 2

El diseño experimental fue previamente publicado (Ithurrade *et al.*, 2019) y también se presenta en este libro en el capítulo “Efectos de la subnutrición durante la gestación sobre el desarrollo del aparato reproductor

del cordero” (Bielli y Pérez-Clariget, 2019). Se sincronizó el celo a 88 ovejas las que fueron inseminadas con semen fresco de dos carneros Corriedale 12 horas después de la detección del celo (día 0). Treinta días después se confirmó la preñez y carga fetal mediante ultrasonografía y aquellas ovejas de gestación simple fueron asignadas al azar a dos tratamientos nutricionales desde el día 30 al 143 de gestación. Las ofertas de forraje asignadas a cada grupo experimental fueron las siguientes: i) Grupo alta oferta de forraje (AOF, n=16; 8 gestantes de machos y 8 gestantes de hembras): las ovejas pastorearon sobre campo natural a 14 kg MS/100 kg PV/día entre los días 30 y 60 de gestación, 15 kg MS/100 kg PV/día entre los días 61 y 110 y 20 kg MS/100 kg PV/día entre los días 111 y 143 de gestación; ii) Grupo baja oferta de forraje (BOF, n=17; 7 gestantes de machos y 10 gestantes de hembras): las ovejas pastorearon sobre campo natural a 6, 5 y 10 kg MS/100 kg PV/ durante los mismos periodos que el grupo anterior. Cada grupo experimental incluyó tres repeticiones en tres parcelas independientes separadas por alambrado eléctrico (diseño de bloques al azar con tres repeticiones). Desde el día 100 de gestación las ovejas fueron suplementadas con 300 g/animal de afrechillo de arroz (88% MS, 14% PC, 9% FDA y 24% FDN). Desde el día 143 hasta el destete (corderos de 90 días) las ovejas y sus corderos fueron manejadas como un único grupo en una misma parcela de campo natural a una oferta no restrictiva y continuaron siendo suplementadas. Los datos de disponibilidad y altura de la pastura, requerimientos energéticos y proteicos cubiertos se presentan por Bielli y Pérez-Clariget (2019) en este libro (Cuadros 6 y 7, respectivamente). Tras el destete, los corderos se transportaron a la Estación de Pruebas de la Facultad de Agronomía, donde fueron alojados en corrales individuales y engordados hasta los 200 días de vida. Los animales se alimentaron *ad libitum* con una mezcla de voluminoso (fardos de alfalfa de buena calidad) y alimento concentrado (ración comercial para corderos: 16% proteínas; 2% extracto etéreo, 13% humedad, 19% fibra cruda, 9% minerales totales). A los

200 días de vida los corderos fueron faenados en la Unidad de Faena Móvil del INAC y se les tomó muestras del músculo *Semitendinosus* izquierdo para su procesamiento histológico.

Determinaciones histológicas en fetos, neonatos y corderos pesados

Las muestras fetales y neonatales fueron incluidas en parafina siguiendo técnicas histológicas estándar y se obtuvieron cortes de 6 µm de espesor, los cuales fueron teñidos con hematoxilina y eosina para evaluar la morfología muscular fetal y neonatal. Los análisis morfométricos fueron realizados utilizando un Software de análisis de imágenes (Infinity analyze®, Toronto, Canadá). En las muestras fetales se determinó la cantidad de fibras fetales secundarias y miotubos primarios para 30 fascículos musculares en desarrollo y se calculó la relación promedio de fibras fetales secundarias y miotubos primarios. Se determinó el diámetro promedio de las fibras fetales secundarias y miotubos primarios a partir de 30 diámetros transversales al azar por muestra. A su vez, utilizando una grilla de referencia superpuesta sobre 8 microfotografías se determinó el volumen porcentual ocupado por el tejido muscular en desarrollo y el intersticio. Se determinó también el número promedio de núcleos por fascículo muscular en desarrollo a partir de 30 fascículos seleccionados al azar. En las muestras neonatales se determinó la densidad fibrilar, la proporción de tejido muscular e intersticio y el número promedio de núcleos por fibra a partir de 5 campos microscópicos por muestra seleccionados al azar. El diámetro fibrilar se calculó como el promedio de 30 diámetros transversales por muestra. Las muestras musculares de corderos pesados fueron incluidas en un medio de inclusión para criostato y secciones de 24 µm de espesor fueron tratadas con la técnica histoquímica NADH-TZ para la revelación de las fibras oxidativas y glicolíticas. La proporción de cada tipo fibrilar se calculó sobre 400 fibras por muestra y el diámetro promedio de cada tipo fibrilar se calculó sobre 30 diámetros transversales de cada tipo fibrilar por muestra.

Análisis estadísticos

Los datos fueron analizados en un diseño de bloques al azar utilizando modelos mixtos del paquete estadístico SAS (SAS 9.0 V; SAS Institute, Cary, NC, USA). Los modelos ajustados incluyeron el efecto del tratamiento (AOF vs. BOF), el sexo y su interacción como efectos fijos y el bloque como efecto aleatorio. La interacción entre el bloque y el tratamiento fue incluida como efecto aleatorio aunque la misma fue removida del modelo cuando el parámetro de la covarianza estimado fue cero o cercano a cero. Las separaciones de medias se realizaron a través del test de Tukey–Kramer y los efectos se

consideraron significativos cuando $P \leq 0,05$ o tendencias cuando $0,05 < P \leq 0,10$. Los datos se expresan como medias \pm errores estándar de la media.

RESULTADOS

Efectos en fetos de 70 días de desarrollo

La subnutrición materna redujo la relación entre fibras fetales secundarias y miotubos primarios, el diámetro de los miotubos primarios, la cantidad de núcleos por fascículo y la proporción de tejido muscular en el *Semiten-dinosus* fetal (Figura 1 y Cuadro 1).

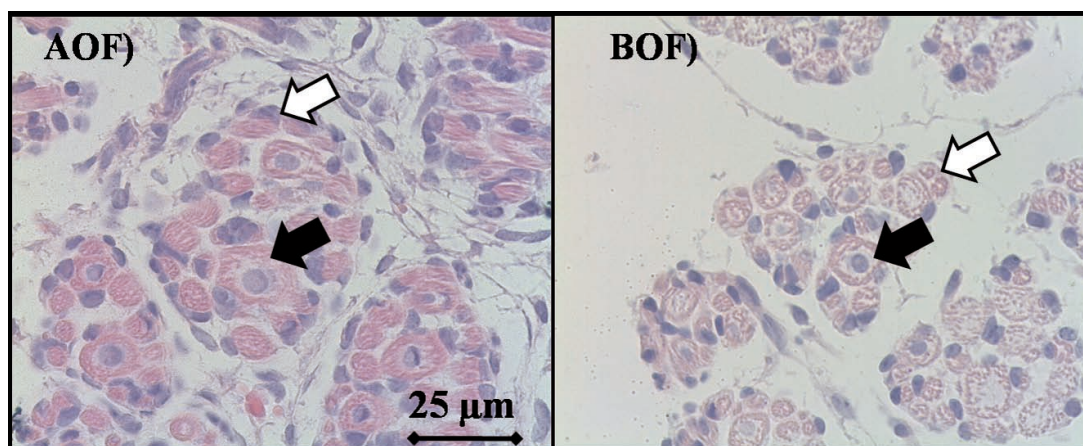


Figura 1. Cortes transversales del *Semiten-dinosus* de fetos ovinos de 70 días gestados por ovejas del grupo AOF y BOF teñidos con H y E. Flechas negras y blancas señalan miotubos primarios y fibras fetales secundarias, respectivamente.

Cuadro 1. Variables musculares medidas (medias \pm EEM) en fetos de 70 días (Exp. 1).

Variables	Tratamientos		P valor
	AOF	BOF	
Relación fibras secundarias/miotubos primarios	7,77 \pm 0,28 ^a	4,27 \pm 0,28 ^b	<0,001
Diámetro miotubos primarios (μ m)	8,19 \pm 0,30 ^a	7,42 \pm 0,31 ^b	0,04
Diámetro fibras secundarias (μ m)	5,36 \pm 0,21	5,16 \pm 0,21	0,42
Núcleos por fascículo	9,9 \pm 0,40 ^a	5,9 \pm 0,40 ^b	<0,001
Proporción tejido muscular (%)	48,2 \pm 3,40 ^a	33,1 \pm 3,40 ^b	0,007

Las medias no acompañadas por literales iguales dentro de una misma fila fueron diferentes ($P < 0,05$).

Efectos en corderos neonatos

La subnutrición materna redujo el diámetro fibrilar, la cantidad de núcleos por fibra y la proporción de tejido muscular en el *Semiten-dinosus* neonatal (Cuadro 2).

Efectos detectados en corderos pesados

La subnutrición materna redujo el peso muscular, la proporción y el diámetro de fibras glicolíticas al tiempo que aumentó

la proporción de fibras oxidativas indistin-tamente del sexo (Figura 2; Cuadro 3). Por otra parte, la subnutrición materna afectó y tendió a afectar de un modo sexo-de-pendiente el peso muscular y el diámetro de las fibras oxidativas, respectivamente. Los corderos machos de BOF presentaron músculos más livianos y fibras oxidativas de menor diámetro al compararlos con los machos de AOF, no detectándose estos efectos entre las hembras de ambos grupos (Cuadro 3).

Cuadro 2. Variables musculares medidas (medias \pm EEM) en corderos neonatos (Exp. 1).

Variables	Tratamientos		P valor
	AOF	BOF	
Diámetro fibrilar (μm)	25,1 \pm 0,8 ^a	21,3 \pm 0,8 ^b	0,0058
Densidad fibrilar/ μm^2 (x 10-4)	4,6 \pm 0,35	3,7 \pm 0,37	0,09
Núcleos por fibra	1,30 \pm 0,02 ^a	1,09 \pm 0,02 ^b	<0,0001
Proporción tejido muscular (%)	53,3 \pm 2,8 ^a	43,4 \pm 2,8 ^b	0,025

Las medias no acompañadas por literales iguales dentro de una misma fila fueron diferentes ($P < 0,05$).

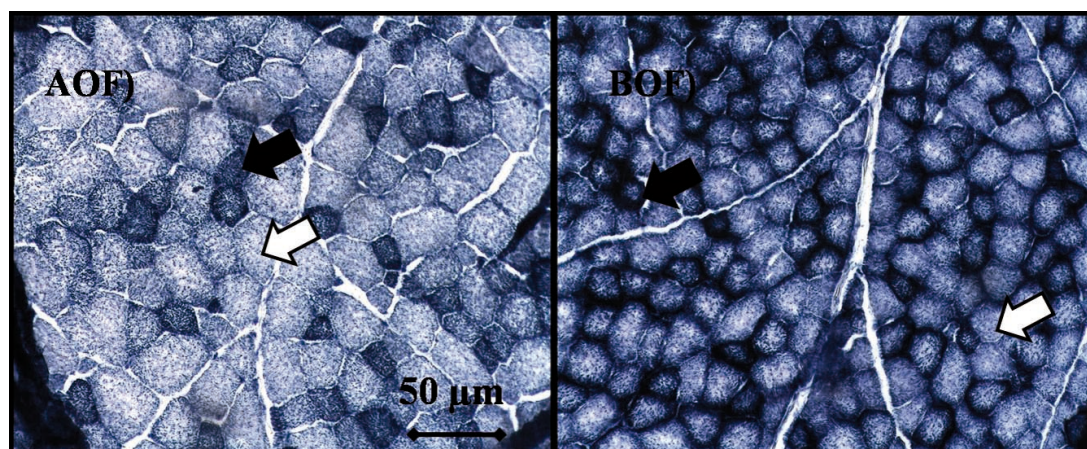


Figura 2. Cortes transversales del *Semiten-dinosus* de corderos de 200 días gestados por ovejas del grupo AOF y BOF tratados con la técnica NADH-TZ. Flechas negras y blancas señalan fibras oxidativas y glicolíticas, respectivamente.

Cuadro 3. Variables musculares medidas en el *Semifitinosus* (medias \pm EEM) de corderos pesados (Exp. 2).

Variables	Tratamientos y sexos						P valor Trat	P valor Trat*sexo
	AOF		BOF		BOF			
	♂	♀	♂	♀	♂+♀	♂+♀		
Peso (g)	109,7 \pm 4,57 ^a	89,3 \pm 4,57	86,5 \pm 4,88 ^b	89,4 \pm 4,09	87,9 \pm 3,18 ^b	87,9 \pm 3,18 ^b	0,02	0,02
% Fibras Oxidativas	21,2 \pm 2,1	17,8 \pm 2,1	29,1 \pm 2,1	23,8 \pm 1,8	26,4 \pm 1,4 ^a	26,4 \pm 1,4 ^a	0,002	0,651
% Fibras glicolíticas	50,2 \pm 2,1	56,8 \pm 2,1	41,3 \pm 2,1	45,8 \pm 1,8	43,6 \pm 1,4 ^b	43,6 \pm 1,4 ^b	<,001	0,595
Diámetro Oxidativas (μ m)	32,5 \pm 2,2 ^a	30,9 \pm 2,2	26,8 \pm 2,2 ^b	31,0 \pm 1,9	28,9 \pm 1,8	28,9 \pm 1,8	0,238	0,090
Diámetro Glicolíticas (μ m)	44,8 \pm 2,3	49,5 \pm 2,3	41,5 \pm 1,9	44,0 \pm 1,9	42,8 \pm 1,7 ^b	42,8 \pm 1,7 ^b	0,033	0,576

Las medias no acompañadas por literales iguales dentro de una misma fila y un mismo sexo fueron diferentes ($P < 0,05$).

DISCUSIÓN

En el presente estudio, dado el período en el cual se aplicó la restricción nutricional en ambos experimentos, es probable que ambas fases miogénicas (hiperplásica e hipertrófica) hayan sido afectadas. En el ovino, la miogénesis hiperplásica culmina con la miogénesis secundaria (formación de fibras fetales secundarias) en torno al día 70 de gestación (Wilson *et al.*, 1992; Picard *et al.*, 2002; Fahey *et al.*, 2005) y de aquí en más, no está previsto un aumento en el número de fibras que constituyan los músculos. A partir de este momento el músculo crece a través de mecanismos hipertróficos que implican la síntesis masiva de proteínas miofibrilares y el aumento en tamaño de las fibras musculares previamente formadas. Nuestros resultados demuestran que una subnutrición materna inducida por una menor oferta de forraje de campo natural desde 23 días previos a la concepción afectan la miogénesis secundaria en el *Semitendinosus* fetal y comprometen la capacidad hipertrófica fibrilar, reduciendo el diámetro fibrilar en el mismo músculo de corderos neonatos. En general nuestros hallazgos confirman la teoría de que la formación de fibras secundarias es susceptible a los efectos ambientales durante el desarrollo (Zhu *et al.*, 2004; Quigley *et al.*, 2005; Tilley *et al.*, 2007) y revisten gran relevancia desde el punto de vista productivo, ya que las fibras secundarias son quienes constituirán la mayor parte de la población fibrilar adulta (Picard *et al.*, 2002). Por ende, esta reducción en número constatada en el momento aproximado en el que estas células dejan de formarse, indica que el desarrollo muscular y la potencialidad productiva de carne se verían comprometidas desde momentos muy prematuros de la gestación y el desarrollo fetal ovino. Al mismo tiempo, el hallazgo de una reducción en la cantidad de núcleos en el *Semitendinosus* de fetos de BOF sugiere una menor cantidad y/o actividad de mioblastos fetales durante la hiperplasia miogénica. De hecho, nuestro equipo ha demostrado que la subnutrición materna reduce la actividad mitótica de los mioblastos fetales en diferentes músculos de

fetos de 70 días de desarrollo (Ithurralde *et al.*, 2017; Ithurralde *et al.*, 2018 b). Esto es relevante dado que la cantidad de núcleos incorporados a las fibras musculares en desarrollo es considerada un factor clave sobre la posterior capacidad fibrilar de síntesis proteica e hipertrofia (Allen *et al.*, 1979). Estos hallazgos en fetos de 70 días enfatizan la importancia de la alimentación de la oveja en la primera mitad de la gestación. Nuestros resultados también demuestran una reducción en la cantidad de mionúcleos en el *Semitendinosus* de neonatos del grupo BOF. Esto podría contribuir a explicar el menor diámetro fibrilar detectado en los neonatos del grupo BOF. Por otra parte, nuestros resultados también indican que la subnutrición materna aumenta la proporción de tejido no muscular tanto en músculos fetales como neonatales. Estos hallazgos son relevantes dado que la cantidad de tejido conjuntivo intramuscular es determinante para la calidad de la carne y sobre todo para su terneza (Purslow, 2005). El aumento en el tejido no muscular evidenciado tanto en fetos como en neonatos podría explicarse por la relación competitiva que se establece entre los diferentes procesos ontogénicos conducentes al desarrollo de los principales tejidos del músculo (tejido muscular esquelético, tejido adiposo, tejido conjuntivo intramuscular). Dado que todas estas líneas tisulares derivan de los mismos progenitores mesenquimales, se ha sugerido que ante situaciones restrictivas, los tres procesos compiten entre sí en el reclutamiento de células mesenquimales, resultando en un mayor desarrollo de los tejidos no musculares en relación al músculo propiamente dicho (Du *et al.*, 2015).

Por otra parte, nuestros resultados también demuestran que los efectos generados por una subnutrición inducida por una menor oferta de forraje de campo natural gestacional se perpetúan en el tiempo y son capaces de generar cambios permanentes en el rendimiento carnicero y la composición fibrilar de corderos pesados de 200 días de vida. Aquellos corderos hijos de madres que durante la gestación padecieron subnutrición pastoreando campo natural a una baja oferta

mostraron músculos más livianos con cambios evidentes en su constitución fibrilar aun cuando desde el nacimiento hasta su faena fueron provistos de las mejores condiciones para su desempeño productivo. A pesar de que trabajos previos han evaluado el impacto de la subnutrición sobre la miogénesis en etapas fetales (Zhu *et al.* 2004) y neonatales (Fahey *et al.* 2005), los trabajos sobre efectos de largo plazo sobre la composición fibrilar a edades y/o pesos compatibles con faenas comerciales reportan efectos escasos y/o contradictorios (Zhu *et al.* 2006; Daniel *et al.*, 2007; Tygesen *et al.*, 2007; Sen *et al.*, 2016; Piaggio *et al.*, 2018). He ahí, la relevancia de nuestros resultados demostrando que una subnutrición gestacional se traduce en músculos con mayores proporciones de fibras oxidativas y con fibras glicolíticas de menor diámetro, lo que podría implicar cambios relevantes sobre la calidad de la carne de estos animales.

Finalmente, nuestros resultados no solo demuestran efectos de programación fetal por subnutrición sobre el desarrollo y la composición muscular sino que indican que algunos de estos efectos podrían operar de un modo sexo-dependiente. En general, los antecedentes evaluando efectos sexo-dependientes de programación fetal sobre el desarrollo muscular en ovinos son escasos y contradictorios (Nordby *et al.*, 1987; Daniel *et al.*, 2007; Sen *et al.*, 2016; Piaggio *et al.*, 2018). Hasta donde sabemos, solamente Daniel *et al.* (2007) reportaron efectos sexo-dependientes de programación fetal, en donde los machos y no las hembras nacidas de ovejas subnutridas presentaron músculos *Longissimus dorsi* más livianos y con mayor contenido lipídico. Nuestro equipo recientemente demostró que la subnutrición gestacional inducida por una menor oferta de campo natural genera efectos sexo-dependientes sobre el crecimiento, el desempeño productivo y el rendimiento carnicero de los corderos. La subnutrición gestacional reduce la tasa de

crecimiento y la ganancia diaria durante el engorde y produjo carcasas de peor calidad en los corderos machos, no observándose estas diferencias entre las corderas hembras de ambos tratamientos (Ithurralde *et al.*, 2019). Los resultados reportados en el presente trabajo son consistentes con estos hallazgos e indican que estos efectos sexo-dependientes podrían evidenciarse también en el peso y la composición fibrilar muscular.

CONCLUSIONES

En síntesis, nuestros resultados indican que una menor oferta de campo natural durante la gestación induce una subnutrición materna que afecta el desarrollo muscular fetal, repercute en las características musculares neonatales y se perpetúa en el tiempo comprometiendo el rendimiento carnicero y la composición fibrilar en corderos pesados. A su vez, nuestros resultados sugieren que parte de estos efectos inducidos por la programación fetal podrían operar de un modo sexo-dependiente afectando principalmente a los corderos machos. Estos hallazgos revisten gran relevancia desde el punto de vista productivo pudiendo indicar que, en condiciones extensivas de pastoreo de campo natural, la capacidad productiva de carne y su calidad final podrían comenzar a verse comprometidas desde etapas muy prematuras del desarrollo fetal y que parte de estos efectos podrían ser más severos sobre machos que sobre hembras.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Ing. Agr. Carlos Mantero, Director de la Estación Experimental Bernardo Rosengurt, a Ignacio Sosa y Nicolás Zunino por su apoyo en el trabajo de campo y a INAC por el uso de su Unidad de Faena Móvil. Este trabajo fue parcialmente financiado con un proyecto CSIC-Iniciación/2017 obtenido por J. Ithurralde.

BIBLIOGRAFÍA

- Allen, R.E.; Merkel, R.A.; Young, R.B.** 1979. Cellular aspect of muscle growth: myogenic cell proliferation 1. *Journal of Animal Science*, 49(1), 115-127.
- Berretta, E.J.; San Julián, R.; Montossi, F.; Silva, J.A.** 1994. Pasturas naturales y producción ovina en la región de basalto en Uruguay. En: Congreso Mundial del Merino (4°, 1994, Montevideo, Uruguay). Memorias. Montevideo. S.U.L. pp 259-278.
- Daniel, Z.C.T.R.; Brameld, J.M.; Craigon, J.; Scollan, N.D.; Buttery, P.J.** 2007. Effect of maternal dietary restriction during pregnancy on lamb carcass characteristics and muscle fiber composition. *Journal of Animal Science*, 85: 1565-1576.
- Du, M.; Wang, B.; Fu, X.; Yang, Q.; Zhu, M.J.** 2015. Review: Fetal programming in meat production. *Meat Science*, 109: 40-47
- Fahey, A.J.; Brameld, J.M.; Parr, T.; Buttery, P.J.** 2005. The effect of maternal undernutrition before muscle differentiation on the muscle fiber development of the newborn lamb. *Journal of Animal Science*, 83: 2564-2571.
- Freitas-de-Melo, A.; Ungerfeld, R.; Hötzel, M.J.; Abud, M.J.; Alvarez-Oxiley, A.; Orihuela, A.; Pérez-Clariget, R.** 2015. Mother-young behaviours at lambing in grazing ewes: Effects of lamb sex and food restriction in pregnancy. *Applied Animal Behaviour Science*, 168, 31-36.
- Haydock, K.P.; Shaw, N.H.** 1975. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 15(76), 663-670.
- Ithurralde, J.; Genovese, P.; Abud, M.J.; Pérez-Clariget, R.; Bielli, A.; López Pérez, A.** 2017. Ofertas de forraje de campo natural durante la gestación en ovinos: Inmunopositividad de PCNA en los músculos Psoas mayor, Gluteobiceps y Semimembranosus de fetos ovinos de 70 días de desarrollo. En: Jornadas Técnicas Veterinarias 2017. Facultad de Veterinaria, UdeLaR.
- Ithurralde, J.; Genovese, P.; Abud, M.J.; Pérez-Clariget, R.; Bielli, A.; López Pérez, A.** 2018. La oferta gestacional de campo natural afecta la expresión de PCNA y mio-genina en fetos ovinos. Jornadas de Investigación de la Facultad de Agronomía 2018. Facultad de Agronomía, UdeLaR.
- Ithurralde, J.; Bianchi, G.; Feed, O.; Nan, F.; Ballesteros, F.; Garibotto, G.; Bielli, A.** 2018. Variation in instrumental meat quality among 15 muscles from 14-month-old sheep and its relationship with fibre typing. *Animal Production Science*, 58(7) 1358-1365.
- Ithurralde, J.; Pérez-Clariget, R.; Corrales, F.; Fila, D.; López-Pérez, Á.; Marichal, M.; Bielli, A.** 2019. Sex-dependent effects of maternal undernutrition on growth performance, carcass characteristics and meat quality of lambs. *Livestock Science*, 221, 105-114.
- Lefaucheur, L.; Gerrard, D.** 2000. Muscle fiber plasticity in farm mammals. *Journal of Animal Science*, 77: 1-19.
- Nordby, D.J.; Field, R.A.; Riley, M.L.; Kercher, C.J.** 1987. Effects of maternal undernutrition during early pregnancy on growth, muscle cellularity, fiber type and carcass composition in lambs. *Journal of Animal Science*, 64: 1419-1427.
- Piaggio, L.** 2014. Suplementación de la recría y engorde de ovinos sobre campo natural. pp 45 En: Seminario de Actualización Técnica: Producción de Carne Ovina de Calidad. INIA Serie técnica 221. ISSN: 1688-9266.

- Piaggio, L.; Quintans, G.; San Julián, R.; Ferreira, G.; Ithurralde, J.; Fierro, S.; Pereira, A.S.C.; Baldi, S.; Banchemo, G.** 2018. Growth, meat and feed efficiency traits of lambs born to ewes submitted to energy restriction during mid-gestation. *Animal*, 12(2), 256–264.
- Picard, B.; Lefaucheur, L.; Berri, C.; Duclos, M.** 2002. Muscle fibre ontogenesis in farm animal species. *Reproduction Nutrition Development*, EDP Sciences, 42 (5), pp.415-431.
- Purslow, P.P.** 2005. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Science*, 70 (3):435-47.
- Quigley, S.P.; Kleemann, D.O.; Kakar, M.A.; Owens, J.A.; Natrass, G.S.; Maddocks, S.; Walker, S.K.** 2005. Myogenesis in sheep is altered by maternal feed intake during the peri-conception period. *Animal Reproduction Science*, 87(3-4), 241-251.
- Sen, U.; Sirin, E.; Yildiz, S.; Aksoy, Y.; Ulutas, Z.; Kuran, M.** 2016. The effect of maternal nutrition level during the periconception period on fetal muscle development and plasma hormone concentrations in sheep. *Animal*, 10(10), 1689-1696.
- Tilley, R.E.; McNeil, C.J.; Ashworth, C.J.; Page, K.R.; McArdle, H.J.** 2007. Altered muscle development and expression of the insulin-like growth factor system in growth retarded fetal pigs. *Domestic animal endocrinology*, 32(3), 167-177.
- Tygesen, M. P.; Harrison, A. P.; Therkildsen, M.** 2007. The effect of maternal nutrient restriction during late gestation on muscle, bone and meat parameters in five month old lambs. *Livestock Science*, 110(3), 230-241.
- Van Soest, P.V.; Robertson, J.B.; Lewis, B.A.** 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583-3597.
- Wilson, S.J.; McEwan, J.C.; Sheard, P.W.; Harris, A.J.** 1992. Early stages of myogenesis in a large mammal: formation of successive generations of myotubes in sheep tibialis cranialis muscle. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 5:534-50.
- Zhu, M.J.; Ford, S.P.; Nathanielsz, P.W.; Du, M.** 2004. Effect of maternal nutrient restriction in sheep on the development of fetal skeletal muscle. *Biology of reproduction*, 71: 1968-1973.
- Zhu, M.J.; Ford, S.P.; Means, W.J.; Hess, B.W.; Nathanielsz, P.W.; Du, M.** 2006. Maternal nutrient restriction affects properties of skeletal muscle in offspring. *Journal of Physiology*, 575: 241-250.