

EFFECTOS DE LA SUBNUTRICIÓN DURANTE LA GESTACIÓN SOBRE EL DESARROLLO DEL APARATO REPRODUCTOR DEL CORDERO

A. Bielli¹; R. Pérez-Clariget²

RESUMEN

La programación fetal por subnutrición se refiere a los efectos de la desnutrición en una etapa temprana sobre el desarrollo de los órganos. La cría de ovejas en Uruguay ocurre normalmente en otoño, con partos a fines del invierno o principios de la primavera. Dado que la producción y la calidad del pasto son menores en invierno, la mayoría de las ovejas preñadas están sujetas a restricción de nutrientes. En el presente trabajo se presentan cuatro experimentos que describen los efectos de la desnutrición durante la gestación en el desarrollo de los órganos reproductivos de los corderos. Nuestra hipótesis es que la subnutrición materna afecta el desarrollo de los órganos reproductivos en corderos machos. Tres de los experimentos se llevaron a cabo en campo natural en Uruguay y uno de ellos se realizó en condiciones controladas en un galpón. Nuestros resultados en fetos de 70 días, en corderos recién nacidos, así como corderos de 100 y 200 días indican que la desnutrición durante la vida temprana trae como resultado menor tamaño testicular y de genitales externos, menor circunferencia escrotal y menor número de células de Sertoli que pueden limitar el potencial reproductivo de los carneros en la vida adulta.

Palabras clave: restricción nutricional, programación fetal, desarrollo testicular, ovinos.

ABSTRACT

Fetal programming by undernourishment refers to the effects of early life subnutrition on organ development later in life. Sheep breeding in Uruguay occurs normally in autumn, with parturitions in late winter or early

spring. Since pasture production and quality is lowest in winter, most pregnant sheep are subject to nutrient restriction. We hereby present four experiments which describe deleterious effects of undernourishment during gestation on reproductive organs development of the lambs. We hypothesized that intrauterine subnutrition affects reproductive organs development in male lambs. Three experiments were carried out on natural pasture in Uruguay, and one of them was carried out under indoors, controlled conditions. Our results on 70 day fetuses, newborn lambs, as well as 100 and 200 days old lambs indicate that subnutrition during early life determines smaller testes and external genitalia, lower scrotal circumference, and lower numbers of Sertoli cells which may limit the reproductive potential of rams in adulthood.

Keywords: nutritional restriction, fetal programming, testicular development, sheep.

INTRODUCCIÓN

El concepto de programación fetal refiere a alteraciones que ocurren en el desarrollo intrauterino de un individuo debido a factores ambientales durante la gestación de la madre, tales como la nutrición (en aspectos cuali y cuantitativos), el estrés, contaminantes tóxicos, etc. La subnutrición durante la gestación genera restricciones intrauterinas que alteran el desarrollo embrionario-fetal y obligan al nuevo producto a priorizar determinados órganos, como los del sistema nervioso central, por encima de otros como el hígado, los genitales y los músculos (Nathanielsz y Hanson, 2003). Esta restricción en humanos tiene efectos de largo plazo sobre la descendencia que ve comprometida

¹ Departamento de Morfología y Desarrollo, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay

² Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay.

su salud (Barker, 2001). En ovinos, además, restringe su potencial productivo (Greenwood y Bell, 2003) y el potencial reproductivo de las hembras (Rhind *et al.*, 1998). Los efectos de la restricción nutricional intrauterina dependerán del momento en que la interferencia suceda, ya que el desarrollo de los órganos y sistemas tiene diferentes cronologías (Burton y Fowden, 2012). En la figura 1 se presenta la cronología del desarrollo del aparato reproductor del carnero. La interferencia en el desarrollo embrionario-fetal produce en órganos y tejidos cambios histomorfológicos, fisiológicos y moleculares responsables de las alteraciones en el bienestar, salud y capacidades productiva y reproductiva de la descendencia en la etapa adulta.

Las espermatogonias son las células de la línea germinal testicular que darán origen a los espermatozoides y mantienen la capacidad de multiplicarse durante toda la vida reproductiva del animal. El macho, a diferencia de la hembra, mantiene al nacimiento las espermatogonias activas, por lo que retiene la capacidad de desarrollar a la pubertad toda la línea espermatogénica (desde espermatogonia a espermatocito, espermátida y espermatozoide). Esta diferencia con la hembra podría explicar los efectos menos dramáticos de la restricción nutricional intrauterina en las crías machos comparado con las crías hembras (Rae *et al.*, 2002). Sin embargo, se han observado efectos de la subnutrición materna sobre el aparato reproductor del macho. En efecto, ratas gestantes alimentadas con una dieta hipocalórica producen crías con retardo en el crecimiento testicular y pubertad a edad más avanzada (Leonhardt *et al.*, 2003). Mientras que, dietas hipoproteicas en la misma especie inducen un menor número de células de Sertoli, menor motilidad y concentración espermática en el testículo y en la cola del epidídimo y mayor frecuencia de anomalías (Toledo *et al.*, 2011). La espermatogénesis a nivel local está regulada por complejas interacciones entre las células de Sertoli y las células de la línea ger-

minal. El número de células de Sertoli en el testículo está altamente correlacionado con el tamaño testicular y la producción máxima de espermatozoides (Sharpe, 1994). La multiplicación de estas células comienza en la etapa embrionaria-fetal, cesa poco antes de la pubertad (56 días de edad en el cordero) y no se evidencia mitosis más allá de esa edad (Steinberger *et al.*, 1971). Por lo tanto, un menor número de células de Sertoli en el adulto limita la producción diaria de espermatozoides.

La cría ovina en nuestro país se realiza en condiciones de pastoreo extensivo, en suelos pobres y con el campo natural como la principal fuente de forraje. La producción y calidad del forraje producido por éste sufre variaciones estacionales siendo el invierno la estación en la que se registran los menores valores (Bermúdez y Ayala, 2005). Considerando que gran parte de las majadas son encarneradas en otoño, la gestación de las ovejas transcurre durante el periodo de menor producción y calidad de forraje, provocando una subnutrición de profundidad variable. En estas condiciones se ha demostrado que la pubertad de las crías machos se ve retrasada (Castrillejo *et al.*, 1995).

Nuestro equipo ha hipotetizado desde la década del 90 que la subnutrición de las ovejas gestantes afecta el desarrollo del aparato reproductor de sus hijos machos explicando, al menos en parte, diferencias en el potencial reproductivo de los carneros y que en nuestras condiciones de producción, la subnutrición de las ovejas gestantes tiene efectos indeseables sobre la descendencia.

En el presente trabajo se presentan resultados obtenidos por nuestro equipo en orden cronológico, trabajando en condiciones de pastoreo en Uruguay (Experimentos 1, 3 y 4) y en condiciones controladas (Experimento 2). En todos los trabajos utilizamos ovejas multíparas y fetos o corderos machos de gestación o parto simple. Posteriormente se hará una discusión general de los resultados obtenidos hasta el presente.

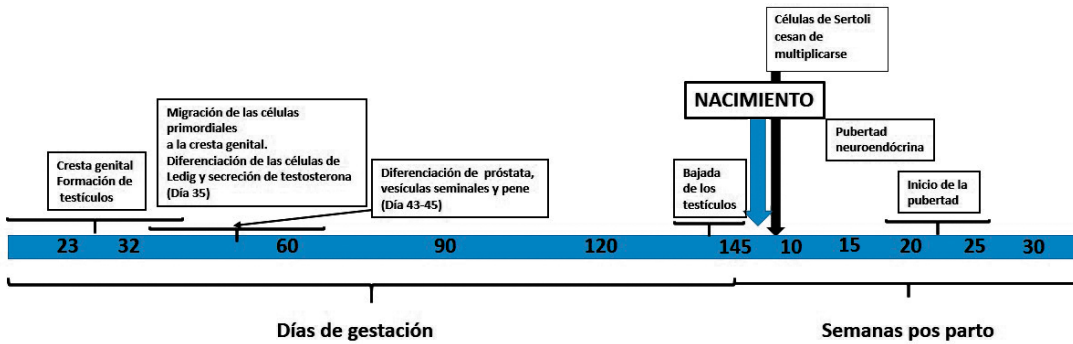


Figura 1. Desarrollo del aparato reproductor del macho ovino (modificado de Zambrano *et al.*, 2014).

EXPERIMENTO 1

Hipótesis y objetivos

En este trabajo desafiamos la hipótesis de que el plano nutricional de la oveja durante la gestación y la lactación influye el desarrollo testicular de sus crías. El objetivo fue comparar dos manejos nutricionales en ovejas desde el diagnóstico de gestación (60 días) hasta los 100 días pos parto sobre el peso corporal, concentraciones séricas de testosterona y hormona folículo estimulante (FSH), peso del testículo y el epidídimo, y la histología testicular de sus crías. El trabajo fue publicado por Bielli *et al.* (2001).

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en un establecimiento comercial ubicado en Carlos Reyles, Durazno (33o S). Los suelos dominantes eran basalto de moderada profundidad. Se utilizaron 26 ovejas Corriedale que habían sido servidas en febrero con un solo carnero de la misma raza y habían pastoreado sobre campo natural desde su destete. Desde abril, fueron asignadas al azar a dos planos nutricionales: a) Grupo CN ($n = 12$): pastoreo sobre campo natural (2-3 animales/ha); b) Grupo CNM (n

= 14): pastoreo sobre campo natural mejorado (trébol rojo, avena y raigrás) a la misma carga animal, más un kilo/animal/día de un suplemento a base de grano de cebada y trigo (10% de proteína cruda (PC) y 2,5 Mcal/kg). La parición se extendió por 9 días (30 de julio al 7 de agosto). Los tratamientos se prolongaron hasta la castración de los corderos a los 100 días de edad.

Resultados

El peso de los corderos del Grupo CNM fue mayor ($P < 0,001$) al nacimiento, durante la lactancia y a los 99 días de edad, si bien ambos grupos aumentaron de peso durante el periodo estudiado (Figura 2). No se observaron diferencias en la concentración sérica de testosterona ni durante la lactancia (Edad: 45, 75 y 99 días) ni entre grupos. La concentración sérica de FSH disminuyó en ambos grupos pero tendió a ser mayor en el Grupo CNM el día 45 (Figura 2). La estructura del parénquima testicular fue diferente entre grupos; el peso testicular fue mayor ($P < 0,001$) en los corderos CNM que en los CN y se observó una tendencia ($P = 0,07$) a que los primeros presentaran mayor número de células de Sertoli en el tejido testicular que los segundos (Cuadro 1).

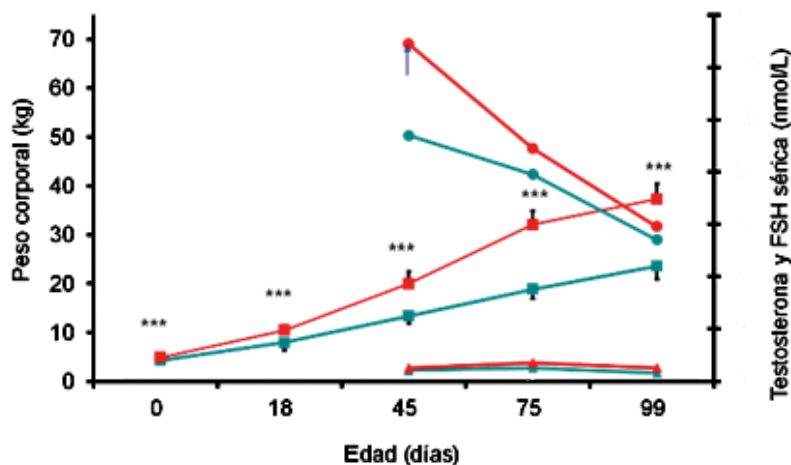


Figura 2. Experimento 1 - Peso y concentraciones séricas de testosterona y FSH en corderos cuyas madres pastorearon sobre campo natural (azul) o sobre campo mejorado + suplemento (rojo) desde el diagnóstico de gestación hasta los 100 días pos parto (adaptado de Bielli *et al.*, 2001).

Cuadro 1. Experimento 1 - Peso de testículos y epidídimo e histología testicular de corderos de 100 días de edad hijos de madres que pastorearon sobre campo natural (Grupo CN) o sobre campo natural mejorado + suplemento (Grupo CNM) desde el diagnóstico de gestación hasta los 100 días pos parto

Variable	Grupo CN	Grupo CNM	Valor de P
Peso testicular (gr)			
Derecho	11,73 ± 6,28	41,38 ± 13,55	0,001
Izquierdo	9,96 ± 4,36	36,77 ± 9,26	0,0001
Volumen testicular (ml)			
Derecho	11,67 ± 6,59	41,67 ± 16,02	0,002
Izquierdo	9,50 ± 5,36	35,71 ± 12,72	0,001
Peso epidídimo derecho (gr)	2,48 ± 0,64	4,89 ± 0,49	0,0001
Diámetro de los túbulos (µm)	72,61 ± 19,66	113,92 ± 26,94	0,01
Volumen (ml)			
Epitelio seminífero	7,57 ± 3,70	27,85 ± 7,10	0,001
Luz de los túbulos	0,22 ± 0,30	3,64 ± 3,79	0,114
Núcleos células Sertoli	1,65 ± 0,46	3,20 ± 0,78	0,007
Núcleos células Leydig	0,04 ± 0,02	0,13 ± 0,04	0,001
Intersticio	3,90 ± 1,16	10,97 ± 4,19	0,018
Número de células (x 109)			
Sertoli	2,07 ± 0,46	3,77 ± 1,57	0,071
Leydig	1,51 ± 0,29	3,54 ± 0,37	0,0001

Modificado de Bielli *et al.* (2001)

EXPERIMENTO 2

Hipótesis y objetivos

Los datos del experimento anterior indicaban que la alimentación de la madre durante la gestación y la lactancia influía sobre el desarrollo del aparato reproductor de sus hijos. Por lo que, en este segundo trabajo decidimos aislar los efectos de la gestación y trabajar en condiciones controladas para evitar posibles interferencias que se producen cuando se trabaja en pastoreo. La hipótesis que desafiamos fue que la subalimentación de ovejas gestantes afecta el desarrollo del aparato reproductor de sus crías. El objetivo del trabajo fue comparar el desarrollo testicular de corderos hijos de ovejas que habían sido alimentadas a 110% y 70% de sus requerimientos de energía metabolizable. El trabajo fue publicado por Bielli *et al.* (2002).

Materiales y métodos

El protocolo experimental fue aprobado por el Comité de Ética Animal de la Universidad de Western Australia, Perth y realizado en las instalaciones de esa universidad (32° S). Se utilizaron 25 ovejas Merino Australiano, ubicadas en corraletas individuales dentro de un edificio que las aislaba de las condiciones exteriores. El fotoperíodo (horas de exposición a la luz) fue ajustado para que

simulara el fotoperíodo natural. Las ovejas fueron asignadas al azar a dos tratamientos nutricionales desde la semana 10 hasta el parto: a) Grupo 110% ($n = 12$): alimentación con 110% de sus requerimientos de energía metabolizable; b) Grupo 70% ($n = 13$): alimentación con 70% de sus requerimientos de energía metabolizable. La dieta desde la semana 10 a la 17 consistió en 80% paja de cereal y 20% semilla de lupino más minerales (8,7 MJ/kg y 12% PC) y de la semana 18 al parto en 48% paja de cereal, 25% semilla de lupino, 25% grano de cebada y 2% minerales (9,8 MJ/kg y 14% PC). La cantidad de alimento se ajustaba cada semana en función del peso de cada oveja. Los corderos fueron sacrificados utilizando solución de pentobarbital intravenosa 48 h después del parto.

Resultados

El peso al nacimiento fue mayor en el Grupo 110% que en el 70% (Grupo 110%: $5,45 \pm 0,08$ kg vs. Grupo 70%: $4,78 \pm 0,05$ kg, $P < 0,05$). La histología testicular fue similar entre los dos grupos pero el peso de ambos testículos tendió ($P = 0,08$) a ser mayor en el Grupo 110% y tanto el volumen de los cordones testiculares como el número de células de Sertoli fueron mayores ($P < 0,03$) en este grupo que en los corderos del Grupo 70% (Cuadro 2).

Cuadro 2. Experimento 2 - Peso del testículo e histología testicular de corderos a las 48 h de edad hijos de madres alimentadas a 110 % (Grupo 110) o 70 % (Grupo 70) de los requerimientos de energía metabolizable desde la semana 10 de gestación hasta el parto

Variable	Grupo 70	Grupo 110	Valor de P
Peso testicular (g)			
Derecho	0,80 ± 0,04	0,92 ± 0,05	0,09
Izquierdo	0,76 ± 0,07	0,88 ± 0,04	ns
Ambos	1,55 ± 0,11	1,81 ± 0,09	0,08
Diámetro de los cordones (µm)	28,73 ± 0,55	27,64 ± 0,26	Ns
Volumen de los cordones (ml)	0,30 ± 0,02	0,36 ± 0,02	0,03
Volumen del intersticio (ml)	0,51 ± 0,03	0,56 ± 0,03	Ns
Número de células de Sertoli por testículo (x 10 ⁸)	34,52 ± 2,03	42,98 ± 2,45	0,018

Modificado de Bielli *et al.* (2002)

EXPERIMENTO 3

Hipótesis y objetivos

En el trabajo anterior habíamos demostrado que el plano nutricional de las madres durante la gestación afectaba el desarrollo testicular en corderos neonatos, por lo que nos propusimos evaluar la importancia de la alimentación durante la primera mitad de la gestación sobre el desarrollo del aparato reproductor del cordero macho. Nuestra hipótesis fue que una oferta de forraje baja de campo natural influye en el desarrollo del aparato reproductor de los corderos neonatos y que esta alteración está ya presente en fetos de 70 días. El objetivo del trabajo fue comparar el desarrollo testicular de fetos de 70 días y corderos neonatos hijos de parto simple de ovejas que habían pastoreado campo natural a dos ofertas de forraje contrastantes. El trabajo fue parcialmente publicado por Bielli *et al.* (2013), Bielli *et al.* (2016), Pérez-Clariget *et al.* (2016).

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en la Estación Experimental Bernardo Rosengurtt, Facultad de Agronomía, Udelar, Cerro Largo (32° S) y los procedimientos utilizados aprobados por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal de la Universidad de la República

(CHEA, Uruguay). Los tratamientos y metodología están descritos en Freitas de Melo *et al.* (2015). Brevemente, se utilizaron 36 ovejas Corriedale que fueron asignadas al azar a dos diferentes ofertas de forraje de campo natural: a) Alta oferta (Grupo AOF, $n = 18$): 10 kg MS/100 kg PV/día desde el día -23 de la concepción hasta el Día 96 de la gestación y 12 kg MS/100 kg PV/día desde el día 97 hasta el 122; b) Baja oferta de forraje (Grupo BOF, $n = 18$): 5 kg MS/100 kg PV/día y 8 kg MS/100 kg PV/día durante los mismos periodos que el grupo anterior. Para aplicar los tratamientos se utilizaron 32 ha de campo natural dividido en 3 bloques subdivididos a su vez en dos por alambrado eléctrico (diseño experimental de bloques al azar con dos tratamientos y 3 repeticiones por tratamiento) y ovejas volantes para ajustar mensualmente la carga. El pastoreo fue continuo y durante todo el periodo las ovejas tuvieron libre acceso al agua. En el cuadro 3 se presenta la disponibilidad y altura del campo natural y los requerimientos energéticos y proteicos cubiertos por los tratamientos, mientras que en el cuadro 4 se muestra la composición química del campo natural. La mitad de las ovejas (9/tratamiento, 3/repeticiones) fueron sacrificadas por faena humanitaria (insensibilización previa al desangrado y consumo posterior) a los 70 días de gestación. El resto de las ovejas fueron esquiladas el día 123 de gestación. Todas

las ovejas fueron suplementadas con 200 gr de afrechillo de arroz (88% MS, 14% PC, 9% FDA y 24% FDN) y 50 mL de glicerina cruda (77% de glicerol, 3 % agua, 6 % cenizas, 13 % materia grasa y 1% de metanol por día y por animal) desde 5 días antes de la esquila hasta el parto. Después de la esquila todas las ovejas pastorearon juntas una pradera de *Festuca arundinacea* [oferta de forraje: 14 kg MS/100 kg de PV/día, (1360,68 ± 77,74

kg MS/ha, altura: 13,20 ± 0,75 cm, 12,55% PC, 48,59% FDN, 22,56% FDA, 10,82% cenizas)]. Los requerimientos energéticos y proteicos cubiertos por la festuca y la suplementación (200 g afrechillo de arroz + 50 mL de glicerol/oveja/día) fueron de 202% y 160% respectivamente. A las 12h post parto los 18 corderos (9/tratamiento, 3/repetición) fueron sacrificados utilizando tiopental intravenoso.

Cuadro 3. Experimento 3 - Disponibilidad y altura del campo natural, y requerimientos energéticos y proteicos cubiertos por los tratamientos

Tratamiento	Mes	Días de gestación	Disponibilidad (kg MS/ha)	Altura(cm)	Requerimientos	
					Energéticos	Proteicos
AOF	Marzo	-23 - 24	1599,2±35,3	10,0±1,0	136%	108%
	Mayo	25 - 58	1752,8±268,5	15,5±1,5	126%	99%
	Junio	59 - 96	1523,1±173,9	13,4±0,1	102%	83%
	Julio	97-122	1245,6±146,8	13,0±0,4	108%	69%
BOF	Marzo	-23 - 24	1599,2±35,3	10,0±1,0	106%	102%
	Mayo	25 - 58	1232,7±59,5	11,6±0,1	83%	70%
	Junio	59 - 96	958,7±107,6	9,6±0,8	74%	67%
	Julio	97-122	763,2±47,9	7,9±0,6	84%	50%

Cuadro 4. Experimento 3 - Composición química del campo natural.

Tratamiento	Mes	MS (%)	PC (%)	FDN (%)	FDA (%)	Cenizas (%)
AOF	Marzo	92,5	9,8	73,9	35,3	7,9
	Junio	90,6	8,3	70,2	34,0	6,5
	Julio	91,7	6,9	75,1	37,5	6,7
BOF	Marzo	92,5	9,8	73,9	35,3	7,9
	Junio	90,1	8,2	73,1	35,4	6,1
	Julio	90,5	6,5	75,9	37,6	6,3

Resultados

Las ovejas del Grupo AOF sacrificadas a los 70 días fueron más pesadas y tuvieron mayor condición corporal (CC) al momento del sacrificio que las de BOF (AOF: 48,8 ± 1,0 kg y 3,0 ± 0,06 vs. BOF: 45,3 ± 0,9 kg y 2,54 ± 0,05 unidades, PV y CC, respectivamente; P < 0,0001). Las ovejas del Grupo AOF que llegaron al parto también fueron más pesadas y tenían mayor (P>0,001) CC que las ovejas

de BOF desde el día de la concepción hasta el parto (Figura 3). Los fetos de BOF presentaron menor (P<0,0001) desarrollo de sus órganos genitales y una tendencia (P=0,08) a que el diámetro de los cordones testiculares fuera menor que en los corderos AOF. Mientras que los corderos neonatos pesaron menos al nacer, sus testículos fueron más livianos (P<0,05) y tendieron a tener menos células de Sertoli (P=0,08). Los resultados se presentan en el cuadro 5.

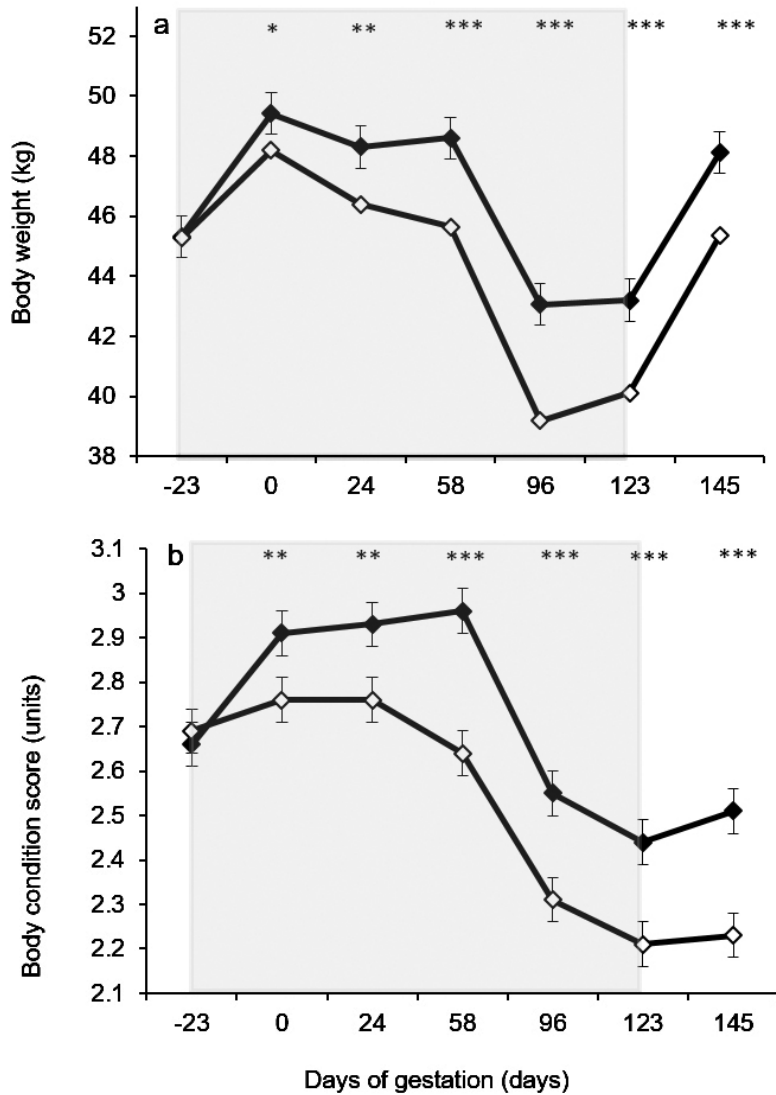


Figura 3. Experimento 3 - Peso (a) y condición corporal (b) de ovejas que pastorearon a 10-12 kg MS/100 kg PV/día (■) o 5-8 kg MS/100 kg PV/día (□) de campo natural. El día 0 corresponde al día de la concepción. El área sombreada corresponde al periodo experimental. Los asteriscos indican diferencias significativas entre grupos dentro del mismo día de gestación (* P<0,05; ** P<0,01, *** P<0,001).

Cuadro 5. Experimento 3: Peso corporal y dimensiones del aparato genital en fetos de 70 días, peso e histología testiculares y dimensiones del aparato genital de corderos neonatos cuyas madres pastorearon a 10-12 kg MS/100 kg PV/día (AOF) o 5-8 kg MS/100 kg PV/día desde 23 días antes de la concepción.

Variable	AOF	BOF	P-valor
Fetos 70 días			
Peso (gr)	152,1 ± 3,57	143,7 ± 3,03	0,10
Peso testicular (gr)	0,043 ± 0,002	0,041 ± 0,002	0,40
Diámetro de los cordones (µm)	30,66 ± 0,56	29,18 ± 5,63	0,08
Volumen de los cordones (%)	0,0117 ± 0,0002	0,0110 ± 0,0002	0,49
Número de células de Sertoli (x109)	3,13 ± 0,14	4,28 ± 0,03	0,46
Número de gonocitos (x 107)	7,12 ± 1,09	6,75 ± 1,09	0,82
Longitud pene (cm)	2,49 ± 0,09	1,99 ± 0,07	0,001
Longitud escroto (cm)	1,34 ± 0,049	1,08 ± 0,041	0,001
Base escroto (cm)	1,07 ± 0,033	0,87 ± 0,029	0,001
Corderos neonatos			
Peso (kg)	5,05 ± 0,17	4,51 ± 0,17	0,02
Peso testicular (kg)	1,92 ± 0,08	1,61 ± 0,08	0,02
Volumen de cordones (%)	0,48 ± 0,05	0,40 ± 0,05	0,02
Número de células de Sertoli (x109)	2,3 ± 1,7	2,6 ± 1,5	0,08
Número de gonocitos (x109)	1,5 ± 0,8	1,2 ± 0,7	0,04
Longitud pene (cm)	7,55 ± 0,41	6,27 ± 0,42	0,05
Longitud escroto (cm)	4,75 ± 0,26	4,42 ± 0,27	0,40
Base escroto (cm)	3,49 ± 0,20	2,88 ± 0,21	0,05
Peso de escroto (gr)	9,84 ± 0,60	8,21 ± 0,60	0,07

EXPERIMENTO 4

Hipótesis y objetivos

Los resultados de los trabajos anteriores mostraron que la alimentación de las madres tiene un claro efecto sobre el desarrollo del aparato reproductor de las crías, siendo la gestación un periodo clave. En este trabajo quisimos profundizar el conocimiento sobre el efecto de la oferta de forraje de campo natural y evaluar si su efecto sobre el desarrollo reproductivo se mantenía cuando los corderos alcanzaban los 200 días, aproximadamente la edad en que presentan la pubertad (Castrillejo *et al.*, 1995). Nuestra hipótesis fue que una baja oferta de forraje incremental de campo natural desde el día 30 de ges-

tación hasta el parto influye negativamente en el desarrollo del aparato reproductor de los corderos a la pubertad. El objetivo fue comparar el efecto de dos ofertas de forraje incrementales de campo natural en ovejas desde el día 30 de gestación hasta el parto sobre el desarrollo del aparato reproductor de corderos de 200 días de edad. El trabajo fue parcialmente publicado por Bielli *et al.* (2018).

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en la Estación Experimental Bernardo Rosengurt, Cerro Largo, Facultad de Agronomía, Udelar (32° S) y los procedimientos utilizados fueron aprobados por la CEUA, Facultad de Agronomía, Udelar.

Se utilizaron 15 corderos Corriedale cuyas madres se asignaron al azar a dos ofertas incrementales de campo natural desde el día 30 al 143 de gestación: i) Alta oferta incremental (Grupo AOFI; $n = 8$): 14 kg de MS/100 kg PV/día desde el día 30 al 60 de gestación (finales de mayo - junio), 15 kg MS/100 kg de PV/día del día 61 a 100 y 20 kg de MS/100 kg PV/día desde el día 101 al 143; ii) Baja oferta incremental (Grupo BOFI; $n = 7$): 6, 5 y 10 kg MS/100 kg PV/día durante los mismos periodos, respectivamente. Desde el día 100 hasta 72h postparto las ovejas fueron suplementadas con 300 gr de afrechillo de arroz/animal/día (88% MS, 14% PC, 9% FDA y 24% FDN). La disponibilidad, altura del forraje y los requerimientos cubiertos por la dieta se presentan en el cuadro 6; la composición química del forraje ofrecido se presenta en el

cuadro 7. Desde el día 143 de gestación hasta el destete los animales pastorearon campo natural a una oferta no restrictiva y continuaron siendo suplementadas (300 gr afrechillo de arroz/animal/día). A los 3 meses de edad cuando los corderos fueron destetados se los trasladó a la Estación de Prueba, Montevideo, Facultad de Agronomía, Udelar (34° 54' S). Fueron alojados en corraletas individuales y alimentados *ad libitum* con mezcla de fardo de alfalfa y ración comercial completamente mezclada (16% PC, 2% extracto etéreo, 19% fibra cruda, 9% minerales) en relación 20:80. A los 200 días de edad fueron sacrificados por faena humanitaria en la Unidad de Faena Móvil de INAC, ubicada en el Instituto de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Udelar, Libertad. Por más información ver Ithurralde *et al.* (2019).

Cuadro 6. Experimento 4 - Disponibilidad y altura del campo natural, y requerimientos energéticos y proteicos cubiertos por los tratamientos

Tratamiento	Mes	Días de gestación	Disponibilidad (kg MS/ha)	Altura (cm)	Requerimientos	
					Energéticos	Proteicos
OF	Junio	30 - 60	2208,2 ± 268,5	15,5±1,5	175	117
	Julio	61 -100	2062,5 ± 173,9	13,4±0,1	134	78
	Agosto	101 - 143	2503,1 ± 146,8	13,0±0,4	165	92
OF	Junio	30 - 60	2135,4 ± 35,3	10,0±1,0	122	76
	Julio	61 -100	1738,3 ± 59,5	11,6±0,1	69	41
	Agosto	101 - 143	2503,1 ± 107,6	9,6±0,8	156	88

Cuadro 7. Experimento 4 - Composición química del campo natural

Tratamiento	Mes	MS (%)	PC (%)	FDN (%)	FDA (%)
AOF	Junio	91,2	7,3	71,0	35,8
	Julio	93,6	5,8	74,0	37,5
	Agosto	96,2	6,6	72,3	39,7
BOF	Junio	91,2	6,7	72,1	37,1
	Julio	94,5	6,4	72,5	39,2
	Agosto	96,2	6,6	72,3	39,7

Resultados

Las madres de los corderos AOFI tendieron a ser más pesadas que las de BOFI (AOFI: $44,7 \pm 0,68$ kg vs. BOFI: $42,72 \pm 0,70$ kg; $P = 0,06$) y al comienzo del último tercio de gestación tenían mayor CC (AOFI: $3,2 \pm 0,1$ vs. BOFI: $2,9 \pm 0,1$; $P < 0,05$). Los corderos del Grupo AOFI fueron también más pesados que los de BOFI (AOFI: $26,76$ kg vs. BOFI: $22,55$ kg, en promedio: $1,60$ kg; $P = 0,016$). Si bien, no se observaron diferencias al nacer, ni a los 45 días de edad, los corderos AOFI fueron más pesados al destete (AOFI: $20,3 \pm 0,9$ kg vs. BOFI: $15,9 \pm 0,9$ kg, $P < 0,05$) y durante toda la fase de engorde que los de BOFI (AOFI: $33,3 \pm 1,4$ kg vs. BOFI: $28,4 \pm 1,4$ kg, $P < 0,05$). Entre los 180 y 200 días de edad, los corderos AOFI tendieron a tener una circunferencia escrotal mayor (AOFI: $31,7 \pm 2,0$ cm vs. BOFI: $26,6 \pm 1,9$ cm; $P = 0,07$), presentaron una mayor distancia ano genital (AOFI: $40,89 \pm 1,21$ cm vs. BOFI: $37,38 \pm 1,22$ cm; $P = 0,04$) pero no se observaron diferencias en el largo del pene (AOFI: $12,4 \pm 0,5$ cm; BOFI: $12,2 \pm 0,5$ cm; $P = 0,7$). La electroeyaculación el día anterior al sacrificio permitió extraer plasma seminal de todos los animales, pero solo dos corderos de AOFI (25%, $P = 0,095$) presentaron espermatozoides en el eyaculado. Al análisis histológico de los testículos, observamos que tanto el diámetro de los túbulos seminíferos (AOFI: $369,69 \pm 19,018$ μm vs. BOFI: $313,44 \pm 17,61$ μm , $P = 0,05$) como el volumen porcentual del parénquima testicular ocupado por epitelio seminífero (AOFI: $51,58 \pm 1,65$ % vs. BOFI $46,18 \pm 1,76$ %) fueron mayores ($P = 0,04$) en los corderos AOFI que en los BOFI. Por el contrario, no encontramos diferencias en el volumen porcentual del tejido limitante ($P = 0,52$), el intersticio testicular ($P = 0,33$) o las células intersticiales de Leydig ($P = 0,92$).

DISCUSIÓN

Los datos tomados en su conjunto permiten confirmar que la subnutrición de las madres afecta el desarrollo del aparato reproductor de sus crías machos. Los resultados son consistentes entre los distintos experimentos y edades estudiadas y demuestran que la restricción nutricional de las madres durante la gestación tiene impacto negativo sobre el desarrollo del aparato reproductor durante la vida embrionaria - fetal y comienza a ser manifiesta en fetos de 70 días extendiéndose por lo menos hasta la edad a la pubertad (200 días de edad). Esta interferencia en el desarrollo intrauterino se manifiesta primero en los órganos genitales externos, los que sufren un fuerte impacto en madres sub alimentadas durante los primeros dos meses de gestación: pene y escroto son menos priorizados en la distribución de nutrientes que el testículo. Si se tiene en cuenta que el testículo es importante para el éxito reproductivo en la medida en que el número diario de espermatozoides producidos puede afectar el número de hembras que puede preñar un carnero, esto parece lógico. Sobre todo porque, en contraposición al tamaño testicular, el tamaño de los genitales externos no tendría, hasta donde sabemos, efecto sobre el éxito reproductivo. Sin embargo, la futura base histológica-funcional de la espermatogénesis, los cordones testiculares (que se convertirán posteriormente en túbulos seminíferos), parecen recibir también el impacto de la subnutrición de sus madres a tan solo 70 días de vida intrauterina. Tanto al nacer como a la pubertad los testículos de los hijos de madres subalimentadas presentan morfología que indica una futura espermatogénesis disminuida. Las células de Sertoli son un buen indicador para estudiar la programación fetal por subnutrición y su número está

disminuido en los testículos de los corderos que sufrieron restricción nutricional intrauterina. Dado que estas células dejan de multiplicarse antes del inicio de la pubertad (56 días de edad en corderos) y su número marca el límite superior de la producción de espermatozoides (Hochereau-de Reviere *et al.*, 1987), es dable esperar que los corderos de madres subalimentadas tengan una menor capacidad de producción de espermatozoides durante toda su vida adulta. Por otra parte, es de hacer notar que una oferta relativamente baja de campo natural induce una subalimentación en las ovejas gestantes con impacto negativo en el desarrollo del aparato reproductor de sus crías. Aún más, un elevado aumento del plano nutricional durante las últimas 3 semanas de gestación, no parece compensar la subalimentación del periodo anterior.

En suma, la subnutrición durante las etapas intrauterinas de la vida de un feto ovino tiene como consecuencia un desarrollo reproductivo alterado, con menor tamaño testicular, menor circunferencia escrotal y probablemente una menor producción diaria de espermatozoides. Estos efectos no parecen ser de fuerte intensidad, sino que son efectos cuantitativos relativamente menores, no evidentes en cuanto a la capacidad espermatogénica, pero que tendrían su impacto en la capacidad reproductiva del individuo. Resta determinar a futuro el grado de dicho impacto.

BIBLIOGRAFÍA

Barker, D.K.P. 2001. The fetal origins of adult disease. *BMJ*, 322-375 doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.322.7283.375>

Bermúdez, R.; Ayala, W. 2005. Producción de forraje de un campo natural de la zona de lomadas del este (Forage production of natural grassland of the zone Lomadas del Este). In Technical Series 151, Seminario de actualización técnica en manejo de campo natural (Seminar of technical update in handling of natural grassland, ed. Gómez Miller R and Albicette MM), INIA, Montevideo, Uruguay, 33-40 pp.

Bielli, A.; Katz, H.; Pedrana, G.; Gastel, M.T.; Moraña, A.; Castrillejo, A.; Lundeheim, N.; Forsberg, M.; Rodríguez-Martínez, H. 2001. Nutritional management during fetal and postnatal life, and the influence on testicular stereology and Sertoli cell numbers in Corriedale ram lambs. *Small Ruminant Research*, 40 (1): 63-71 doi: [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(00\)00213-3](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(00)00213-3)

Bielli, A.; Pérez-Clariget, R.; Pedrana, G.; Milton, T.J.; López, A.; Blackberry, M.A.; Duncombe, G.; Rodríguez-Martínez, H.; Martín, G.B. 2002. Low maternal nutrition during pregnancy reduces the number of Sertoli cells in the newborn lamb. *Reproduction Fertility and Development*, 14 (5-6): 333-337 doi: <https://doi.org/10.1071/RD02046>

Bielli, A.; Genovese, P.; Riaño, V.; Abud, M.J.; Álvarez, A.; Ithurralde, J.; López-Pérez, A.; Pérez-Clariget, R. La oferta de forraje afecta la longitud del pene y el tamaño del escroto en fetos ovinos de 70 días de gestación. XXIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA), Habana, Cuba, 18-22 noviembre 2013.

- Bielli, A.; Montaldo, S.; Genovese, P.; Correia, R.; Riaño, V.; Pérez Clariget, R.** Pasture allowance during pregnancy does not affect the histology of the testes in 70 days lamb fetuses. 18th. International Congress on Animal *Reproduction* (ICAR). Tours, Francia. 26-30 de junio 2016.
- Bielli, A.; Genovese, P.; Marí, E.; Montaldo, S.; Abud, M.J.; López-Pérez, A.; Pérez-Clariget, R.** Efecto de la oferta de forraje en la oveja gestante sobre el desarrollo del aparato reproductor masculino de sus crías. VI Congreso de la Asociación Uruguaya de Producción Animal (AUPA), 19 al 21 de marzo 2018, Tacuarembó, Uruguay.
<http://www.revistasmvu.com.uy/aupa-2018/AUPA-2018-FINAL.pdf>
- Burton, G.J.; Fowden, A.L.** 2012. Review. The placenta and developmental programming: Balancing fetal nutrient demands with maternal resource allocation. *Placenta*, 33: S23-S27. doi: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2011.11.013> Epub 2011 Dec 10.
- Castrillejo, A.; Moraña, J.A.; Bielli, A.; Gastel, M.T.; Molina, J.R.; Forsberg, M.; Rodríguez-Martínez, H.** 1995. Onset of spermatogenesis in Corriedale ram lambs under extensive rearing conditions in Uruguay. *Acta veterinaria Scandinavica*, 36: 161-173.
- Freitas de Melo, A.; Ungerfeld, R.; Hötzel, M.J.; Abud, M.J.; Alvarez-Oxiley, A.; Orihuela, A.; Damián, J.P.; 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
<https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.04.009>
- Greenwood, P.L.; Bell, A.W.** 2003. Consequences of intra-uterine growth retardation for postnatal growth, metabolism and pathophysiology. *Reproduction Supplement*, 61: 195-206
- Hochereau-de Reviers MT, Monet-Kuntz C, Courot M.** 1987. Spermatogenesis and Sertoli cell numbers and function in rams and bulls. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, 34:101-14.
- Ithurralde, J.; Pérez-Clariget, R.; Corrales, F.; Fila, D.; López-Pérez, A.; Marichal, M.J.; Saadoun, A.; Bielli, A.** 2019. Sex dependent effects of maternal undernutrition on growth performance carcass characteristics and meat quality of lambs. *Livestock Science*, 221: 105-114
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.01.024>
- Leonhardt, M.; Lesage, J.; Croix, D.; Duetriez-Casteloot, I.; Beauvillain, J.C.; Dupouy, J.P.** 2003. Effects of perinatal maternal food restriction on pituitary–gonadal axis and plasma leptin level in rat pup at birth and weaning and on timing of puberty. *Biology of reproduction*, 68: 390–400.
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.003269>
- Nathanielsz, P.W.; Hanson, M.A.** 2003. The fetal dilemma: spare the brain and spoil the liver. *The Journal of physiology*, 548: 333
doi: 10.1113/jphysiol.2003.040527
- Pérez-Clariget, R.; Montaldo, S.; Genovese, P.; Riaño, V.; Bielli, A.** Pasture allowance during pregnancy affects the histology of the testes in newborn lambs. 18th. International Congress on Animal *Reproduction* (ICAR). Tours, Francia. 26-30 de junio 2016.
- Rae, M.T.; Kyle, C.E.; Miller, D.W.; Hammond, A.J.; Brooks, A.N.; Rhind, S.M.** 2002. The effects of undernutrition, in utero, on reproductive function in adult male and female sheep. *Animal Reproduction Science*, 72(1-2): 63-71.
[https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(02\)00068-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00068-4)

Rhind, S.M.; Elston, D.A.; Jones, J.R.; Rees, M.E.; McMillen, S.R.; Gunn, R.G., 1998. Effects of restriction of grow and development of Brecon Cheviot ewe lambs on subsequent lifetime reproductive performance. *Small Ruminant Research*, 30(1-2): 121–126.
[https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(98\)00103-5](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(98)00103-5)

Sharpe, R.M. 1994. Regulation of spermatogenesis. En: *Physiology of Reproduction*. Eds. Knobil E, Neill JD. Raven Press, New York, 1363-14-34.

Steinberger, E. 1971. Hormonal control of mammalian spermatogenesis. *Physiological Reviews*, 51(1):1-22.
<https://doi.org/10.1152/physrev.1971.51.1.1>

Toledo, F.C.; Perobelli, J.E.; Pedrosa, F.P.; Ansemo-Franci, J.A.; Kempinas, W.D. 2011. *In utero* protein restriction causes growth delay and alters sperm parameter in adult male rats. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 9: 94
doi: 10.1186/1477-7827-9-94.