



JORGE YAIR PÉREZ PALENCIA

**ESTUDO DA MIOGÊNESE FETAL DE
SUÍNOSEM DIFERENTES PERÍODOS
GESTACIONAIS**

LAVRAS - MG

2015

JORGE YAIR PÉREZ PALENCIA

**ESTUDO DA MIOGÊNESE FETAL DE SUÍNOS EM DIFERENTES
PERÍODOS GESTACIONAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de Concentração em Nutrição e Produção de Não Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Márvio Lobão Teixeira de Abreu

LAVRAS - MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Palencia, Jorge Yair Pérez.

Estudo da miogênese fetal de suínos em diferentes períodos gestacionais / Jorge Yair Pérez Palencia. – Lavras : UFLA, 2015.
71 p. : il.

Dissertação(mestrado acadêmico)–Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador: Márvio Lobão Teixeira de Abreu.

Bibliografia.

1. Capacidade uterina. 2. Corno uterino. 3. Crescimento intrauterino. 4. Fibras primárias. 5. Fibras secundárias. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

JORGE YAIR PÉREZ PALENCIA

**ESTUDO DA MIOGÊNESE FETAL DE SUÍNOS EM DIFERENTES
PERÍODOS GESTACIONAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de Concentração em Nutrição e Produção de Não Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 14 de Agosto de 2015.

Dr. Gregório Corrêa Guimarães	UFLA
Dr. Márcio de Souza Duarte	UFV
Dr. Rony Antônio Ferreira	UFLA

Dr. Márvio Lobão Teixeira de Abreu
Orientador

LAVRAS - MG

2015

DEDICO

*A Deus por seu amor incondicional, sua misericórdia e favor que me sustentam
cada dia, a Ele toda a glória para sempre.*

AGRADECIMENTOS

A Deus pelos seus propósitos em minha vida, seu cuidado, proteção e respaldo que me fazem sentir confiante e me levam alcançar cada meta.

Aos meus pais, Jose Pérez e Luisa Palencia, por seu amor e apoio mesmo estando distante. Por seu exemplo de vida, por suas palavras de ânimo e conforto e por dar-me, com esforço, o melhor para que eu seja feliz.

À minha irmã, Katy, que esteve sempre me apoiando e dando-me ânimo para seguir em frente.

Ao Brasil por ter aberto suas portas para a realização dos meus estudos e para a vivência de muitas experiências enriquecedoras.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade concedida para realização do mestrado.

À Universidad de Sucre, na Colômbia e ao Programa de Zootecnia, pelos conhecimentos adquiridos, durante a graduação e por meio dos quais conheci a UFLA.

Ao meu orientador, Prof. Márvio Lobão Teixeira de Abreu, pela oportunidade, ao aceitar-me como orientado, por todos os ensinamentos que me proporcionou e pelo constante apoio e disponibilidade no desenvolvimento deste trabalho e das demais atividades do mestrado.

Ao Núcleo de Estudos em Suinocultura (NESUI) pelos conhecimentos proporcionados, pela oportunidade de crescer e pelo apoio de cada membro.

Aos professores, prof. Vinicius de Souza Cantarelli e prof. Rony Antonio Ferreira, pelos ensinamentos adquiridos e pelo apoio nas atividades do mestrado.

Aos meus amigos da Colômbia, Andres, Rene, Steven, Tulio, Leo, Yuli, Alex, Cindy, pela sua amizade e apoio sempre.

Aos meus amigos no Brasil, Marina, Rafael, Solange, Michelle, Samuel e Luan pela sua amizade e apoio sempre.

Aos meus amigos e irmãos da igreja Llanura Fertil na Colômbia pelo respaldo e apoio, durante todo este tempo, em especial à família Oviedo Revollo.

Aos meus amigos e irmãos da igreja Projeto Alma por seu grande apoio e por me acolher e apoiar aqui no Brasil, em especial à família Cicheleiro.

Ao pessoal do laboratório de histologia do departamento de zootecnia da UFLA, em especial à Raquel, pelo seu apoio e ajuda durante as análises.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento desta pesquisa (Processo nº: CVZ-APQ-04446-10).

Aos meus amigos, familiares e conhecidos que contribuíram de alguma forma para que este sonho se fizesse realidade.

E, tudo quanto fizerdes, fazei-o de todo o coração, como ao Senhor...

Colossenses 3:23

RESUMO GERAL

Um experimento foi realizado, objetivando-se avaliar os efeitos do sexo e da posição no útero sobre a miogênese de suínos em diferentes idades gestacionais. Foram utilizadas 15 fêmeas suínas primíparas distribuídas em três grupos, de acordo com a idade gestacional de abate: 50, 80 e 106 dias. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial dois sexos (machos e fêmeas) x três regiões uterinas (ápice, média, base). Após o abate e retirada do trato reprodutivo, cada corno uterino foi dividido em três segmentos de mesmo comprimento: ápice, região mais próxima do ovário; base, região mais próxima do corpo uterino; e a região média, situada entre as anteriores. Os fetos foram pesados, identificados e abertos longitudinalmente para colheita do músculo *Semitendíneo* e posteriores análises morfológicas. Aos 50 dias de gestação, fetos machos se mostraram com maior ($P < 0,05$) peso, quando comparados com as fêmeas, o qual foi acompanhado com uma tendência da área de fibras primárias serem maior para os fetos machos. O número de fibras primárias se correlacionou negativamente com o número de fetos presentes no útero. Aos 80 dias, fetos pertencentes à região da base apresentaram menor ($P < 0,05$) área de fibras musculares secundárias quando comparados aos situados na região do ápice. A relação de fibras secundárias sobre primárias se correlacionou positivamente com o peso. Conclui-se que o sexo pode influenciar o desenvolvimento muscular de fetos em idades iniciais e a posição no útero afeta o desenvolvimento de fibras musculares secundárias, sendo os fetos da base do corno uterino os de menor desenvolvimento.

Palavras - chave: Capacidade uterina. Corno uterino. Crescimento intrauterino. Fibras primárias. Fibras secundárias.

GENERAL ABSTRACT

This experiment was conducted to evaluate the effects of gender and fetus position within the uterus over swine myogenesis, at different gestational ages. We used fifteen primiparous sows, divided into three groups according to gestational age at slaughter: 50, 80, and 106 days. The experimental design was completely randomized, in a 2 x 3 factorial design - two genders (male and female) x three uterine regions (apex, middle, base). After slaughter and removal of the reproductive tract, each uterine horn was divided into three segments of equal length: apex region, closest to the ovary; base region, closest to the uterine body; and the middle region, located between the above. The fetuses were weighed, identified and open longitudinally in order to harvest the semitendinosus muscle and, later, perform morphological analysis. After 50 days of pregnancy, male fetuses showed higher ($P < 0.05$) weight when compared with female, in addition to presenting tendency for greater primary fiber area. The number of primary fibers was negatively correlated with the number of fetuses within the uterus. After 80 days, fetuses belonging to the base region had lower ($P < 0.05$) secondary muscle fiber area when compared to fetuses from the apex. The ratio of secondary: primary fibers was positively correlated with weight. In conclusion, gender may influence muscle development in fetuses at early development stages, and the position in the uterus affects the development of secondary muscle fibers. Fetuses of the base region presented the lowest development.

Keywords: Uterine capacity. Uterine horn. Intrauterine growth. Primary fiber. Secondary fiber.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE

- Figura 1 Distribuição arterial uterina em suínos. Artéria uterina (1),
cérvix (2), corpo do útero (3), corno uterino (4), antímero
direito (A.D) e antímero esquerdo (A.E).....20
- Figura 2 Estágios de formação das fibras musculares22
- Figura 3 Diâmetro de fibras musculares primárias e secundárias em
diferentes idades gestacionais em leitegadas pesadas e leves.....23
- Figura 4 Fotomicrografia de corte transversal do músculo *semitendíneo*
de fetos suínos no dia 50 de gestação. Nota-se a ocorrência de
fibras musculares primárias com núcleo central24
- Figura 5 Fotomicrografia de corte transversal do músculo *semitendíneo*
de fetos suínos no dia 80 de gestação. É possível observar
fibras musculares primárias (Setas vermelhas) com núcleo
central e fibras musculares secundárias (Setas azuis) com
núcleo na periferia.....25
- Figura 6 Representação esquemática do desenvolvimento das fibras
musculares em suínos.....26

SEGUNDA PARTE - ARTIGO

- Figura 1 Regiões uterinas. Ápice (Á), Média (M) e Base (B).....41
- Figura 2 Fotomicrográficas do músculo *Semitendíneo* de fetos suínos
aos 50 (A), 80 (B) e 106 (C) dias gestação. Objetivo 40x.....45

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE - ARTIGO

Tabela 1	Número de fetos suínos utilizados no experimento segundo o sexo e posição no útero	44
Tabela 2	Características histológicas do músculo <i>Semitendíneo</i> de fetos suínos relacionadas com o sexo e a posição no útero aos 50 dias de gestação	47
Tabela 3	Características histológicas do músculo <i>Semitendíneo</i> de fetos suínos relacionadas com o sexo e aposição no útero aos 80 dias de gestação	49
Tabela 4	Características histológicas do músculo <i>Semitendíneo</i> de fetos suínos relacionadas com o sexo e a posição no útero aos 106 dias de gestação	52

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO 14
2	REFERENCIAL TEÓRICO 16
2.1	Crescimento fetal na espécie suína 16
2.2	Fatores que influenciam o desenvolvimento fetal 18
2.3	Miogênese em Suínos 21
2.4	Desenvolvimento muscular e sua relação com o peso 28
	REFERÊNCIAS 31
SEGUNDA PARTE - ARTIGO 35	
ARTIGO 1 Miogênese fetal de suínos em diferentes períodos gestacionais 35	
1	INTRODUÇÃO 37
2	MATERIAL E MÉTODOS 39
3	RESULTADOS 44
4	DISCUSSÃO 54
5	CONCLUSÃO 60
	REFERÊNCIAS 62
	ANEXOS 66

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A Produção mundial de carne suína teve um crescimento de 42,7% nos últimos 17 anos, passando de 78,2 milhões de toneladas em 1995 para 111,7 milhões em 2012. O Brasil é o quinto maior produtor mundial de carne suína, visto que, nos últimos anos, a suinocultura brasileira cresceu 134,7%, ao tempo que ocorreu uma evolução do plantel total de suínos, do consumo de carne suína e das exportações (ROPPA, 2014). Este rápido desenvolvimento é resultado das constantes inovações em genética, nutrição, manejo e sanidade, em que o aumento da produtividade da fêmea suína, expressa no tamanho da leitegada, foi o fator de maior impacto na eficiência produtiva dos plantéis. Entretanto, este melhoramento trouxe implicações negativas em outros índices zootécnicos em virtude das alterações no desenvolvimento placentário e fetal, originando novos desafios ao setor.

O crescimento e o desenvolvimento do feto e de seus órgãos, durante a gestação, é influenciado por vários fatores relacionados ao ambiente uterino, entre eles, o número de conceptos, a capacidade uterina, a distribuição vascular uterina, a disponibilidade de nutrientes, o fluxo sanguíneo nas diferentes regiões do útero, a eficiência placentária e até mesmo a localização fetal ao longo do corno uterino. Essas características em espécies hiperprolíficas podem determinar o potencial de crescimento e a sobrevivência intrauterina dos conceptos, o qual vai estar futuramente relacionado com a variação do peso dos leitões ao nascimento e com seu desenvolvimento pós-natal.

O crescimento intrauterino retardado (CIUR), caracterizado pela redução no crescimento e desenvolvimento de embriões e fetos de mamíferos ou de seus órgãos, durante a gestação (WU et al., 2006), é um fenômeno de grande

incidência nas granjas suínas. A superlotação uterina e a competição por nutrientes e oxigênio levam à perda da qualidade dos leitões, gerando baixo peso ao nascimento, desuniformidade das leitegadas e variação do crescimento durante todas as etapas produtivas. Além disso, leitões com baixo peso ao nascimento são mais susceptíveis às doenças, apresentam maior mortalidade e têm desempenho produtivo comprometido, causando grande impacto, muitas vezes, não estimado.

Tem-se demonstrado que baixo peso ao nascimento pode afetar o desenvolvimento muscular do suíno. A taxa de crescimento pós-natal dos suínos é determinada por diversos fatores, mas um dos mais relevantes e que está sendo estudado com maior frequência na literatura atual é o número de fibras musculares. Eventos e fatores pré-natais como o genótipo, o sexo, a nutrição da porca, o fluxo de oxigênio e nutrientes por meio da placenta (relacionados com o número e a posição dos fetos no útero), podem influenciar direta ou indiretamente a diferenciação das fibras musculares e determinar o número destas fibras bem como sua taxa de crescimento. Portanto, torna-se importante conhecer como esses aspectos, relacionados ao ambiente uterino, atuam sobre o desenvolvimento muscular do suíno, visando à otimização no desempenho pós-natal desses animais.

Há poucos trabalhos na literatura que associem fatores do ambiente uterino com a miogênese fetal de suínos em diferentes períodos gestacionais. Dessa forma, objetivou-se com o presente estudo avaliar a influência do sexo e da posição no útero sobre a miogênese de suínos em diferentes períodos gestacionais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Crescimento fetal na espécie suína

A gestação é um processo que inclui inúmeros eventos dentro do sistema reprodutivo da fêmea da fecundação até a expulsão do feto. Em suínos a gestação dura em média 114 ± 3 dias, dependendo de fatores tais como a genética, o ambiente e o manejo (FERREIRA, 2012; PANZARDI et al., 2007). O desenvolvimento fetal é um fator importante quando se fala de alcançar a máxima produtividade dentro do sistema, pelo fato de possuir uma alta relação com o crescimento pós-natal dos animais e com isso pode influenciar positiva ou negativamente a rentabilidade desta atividade (GREENWOOD et al., 2010).

Em suínos, a gestação é geralmente dividida em três períodos; o primeiro se caracteriza pelo reconhecimento materno da gestação e pela implantação dos embriões no útero, os outros dois períodos são caracterizados pelo desenvolvimento e crescimento fetal (PANZARDI et al., 2007). Nos primeiros dias pós-cobertura, ocorrem três eventos fundamentais, fecundação, implantação e placentação. A fecundação ocorre na ampola da tuba uterina, próximo à junção ampola-istmo. Posteriormente, o zigoto inicia o processo de clivagem, que tem duração de 2 a 3 dias, ao final dos quais o organismo passa a possuir quatro células. No quarto dia após ovulação, inicia-se o estágio de mórula cujo zigoto já se encontra no útero e possui de 15-32 células. Em seguida, é formada uma cavidade cheia de fluído denominada blastocela que aumenta rapidamente dando início ao estágio de blastocisto (HYTTEL et al., 2000).

A zona pelúcida é uma membrana que cerca os blastocistos e atua na manutenção da clivagem impedindo a aderência do embrião à parede do oviduto. Entre os dias seis e sete de gestação, os blastocistos eclodem desta zona e, nos

próximos dias, estarão livres no lúmen uterino, onde aumentam seu diâmetro até 10 milímetros. Próximo ao 12º dia, após fertilização, ocorre a migração intrauterina de embriões, com a finalidade de equalizar o número de conceptos por corno. Este processo ocorre, graças aos movimentos peristálticos da parede uterina que promove a migração, ao longo dos dois cornos uterinos, indo do final de um ao outro (DZIUK; POLGE; ROWSON, 1964).

Entre os dias 12 e 16, os embriões começam a alongar-se, pela reorganização das células. Simultaneamente os embriões sintetizam secreções esteroides, fatores de crescimento e citocinas, que atuam prevenindo a secreção de prostaglandina F2 α , estimulam a secreção de proteínas ou agem diretamente no ovário para a produção de progesterona, prolongando a vida útil dos corpos lúteos. Este processo fisiológico é conhecido como reconhecimento materno da gestação e são necessários, no mínimo, quatro embriões para que haja a suficiente produção de estrógeno, capaz de dar início à sinalização (GOFF, 2002).

A implantação começa em torno dos dias 13 e 14 de gestação, por meio do leve contato entre o trofoblasto e as membranas uterinas, estando completa, após o 18º dia de gestação, quando se observa grande interação das microvilosidades uterinas e trofoblásticas. Esta etapa caracteriza a fase inicial da formação de membranas placentárias, as quais crescem até o nascimento.

Concluída a placentação, a organogênese e a deposição de cálcio no esqueleto, inicia-se a fase fetal, a partir do dia 35 de gestação (PANZARDI et al., 2007). Segundo Meredith (1995), os principais eventos que ocorrem, durante o desenvolvimento fetal, incluem a formação de órgãos, membros e calcificação do esqueleto, por volta dos dias 35 e 36 de gestação; a formação das fibras musculares primárias dos dias 35 até 55; início do alongamento das vilosidades intestinais a partir do dia 40; diferenciação de escroto ou lábios vulvares por volta do dia 44 de gestação; formação de fibras musculares secundárias do dia

55 até 95; identificação de dentes e cascos definidos dos dias 60 até 75; o aparecimento de pelos ocorre entre os 90 e 100 dias e a presença de testículos no escroto nos dias 105 aos 115. Desta forma, completa-se o tempo de gestação com a expulsão dos fetos.

2.2 Fatores que influenciam o desenvolvimento fetal

O desenvolvimento embrionário e fetal é um processo bastante complexo e altamente integrado, que é determinado por fatores próprios do animal como genótipo, tamanho corporal materno, idade, ordem de parição e nutrição. No contexto atual, com fêmeas hiperprolíficas é preciso atentar-se em outros tipos de fatores como a capacidade uterina, lotação no útero, eficiência placentária, distribuição vascular uterina e posição fetal, que tem tomado grande importância, por estarem relacionados ao desenvolvimento dos conceptos no útero e com seu crescimento pós-natal (DU et al., 2015).

Segundo Ford, Vonnahme e Wilson (2002), a capacidade uterina é definida como o número de conceptos que o útero pode levar ao nascimento, sendo a competição pelo espaço, oxigênio e nutrientes que atuam como fatores limitantes. Entre os dias 30 e 40, a placenta de cada conceito começa a expandir-se, rapidamente, forçando a competição pelo espaço uterino e ocasionado um alto índice de perdas (10 – 15%). Desta forma, à medida que o número de conceptos aumenta, a capacidade uterina resulta uma característica limitante para o número de leitões viáveis e para seu desenvolvimento favorável.

A lotação uterina é fruto do melhoramento genético da suinocultura, nos últimos anos, o qual focou em características produtivas e reprodutivas dos animais, principalmente, na fêmea suína que tem sido melhorada para produzir uma quantidade maior de leitões. Lotação uterina está relacionada com menor fluxo de oxigênio e nutrientes por conceito e com menor espaço para seu

desenvolvimento, ocasionando queda do crescimento e variação do peso ao nascimento (FIX et al., 2010). Bérard et al. (2010) avaliaram os efeitos da lotação uterina sobre o desenvolvimento muscular de leitões ao nascimento, utilizando fêmeas suínas unilateralmente ovariectomizadas. A lotação uterina afetou negativamente a hiperplasia das fibras musculares secundárias e diminuiu o número de fibras totais, o que pode afetar o potencial de crescimento pós-natal e, com isso, resultar em perdas econômicas em virtude da reduzida proporção de carne magra nas carcaças de suínos. Resultados semelhantes encontraram Pardo et al. (2013), os quais estudaram os efeitos da lotação uterina sobre o desenvolvimento do músculo *longuíssimo* e *semitendíneo* em suínos, provocando um ambiente uterino lotado e um ambiente uterino não lotado. Os autores encontraram que leitões, provenientes de ambientes uterinos lotados, apresentaram menores pesos de órgãos, maior número de fibras musculares primárias, menor relação entre fibras secundárias e fibras primárias e menor diâmetro de fibras musculares secundárias. O referido estudo sugere que indivíduos nascidos, a partir de um ambiente uterino lotado, apresentam prejuízos na hiperplasia e hipertrofia de fibras secundárias nos músculos *longuíssimo* e *semitendíneo*, em suínos.

A capacidade de transferência de nutrientes da mãe para o conceito depende do tamanho, morfologia, fluxo sanguíneo e capacidade transportadora da placenta, sendo a eficiência deste processo responsável pelo crescimento intrauterino do feto (FOWDEN et al., 2006). A eficiência placentária pode ser medida pela razão entre o peso ao nascimento do leitão e o peso da placenta. Assim, alta eficiência placentária indica a capacidade de manter o desenvolvimento fetal adequado, sem afetar sua viabilidade. Mesa et al. (2012) estudaram os efeitos da seleção para peso e eficiência da placenta sobre o desenvolvimento de fetos suínos. Os resultados destes autores sugerem que, em raças ocidentais, a seleção para redução no peso da placenta não é acompanhada

por mecanismos de compensação na transferência de nutrientes da placenta, para o feto, o qual pode resultar em diminuição da sobrevivência dos fetos na vida intrauterina. Por outro lado, o estudo destaca que a seleção, para aumento da eficiência placentária, estaria pouco correlacionada com melhoras na qualidade da leitegada.

O aporte de nutrientes e oxigênio para o feto, tanto em quantidade como em qualidade, são fundamentais para seu desenvolvimento, tornando importante a distribuição vascular uterina, responsável pelo transporte do sangue para o útero. Em suínos, este sistema é composto, principalmente, pela artéria uterina que chega até o corno, ramificando-se em dois ou três ramos principais, os quais anastomosam-se e estendem-se por todo o órgão (Figura 1).

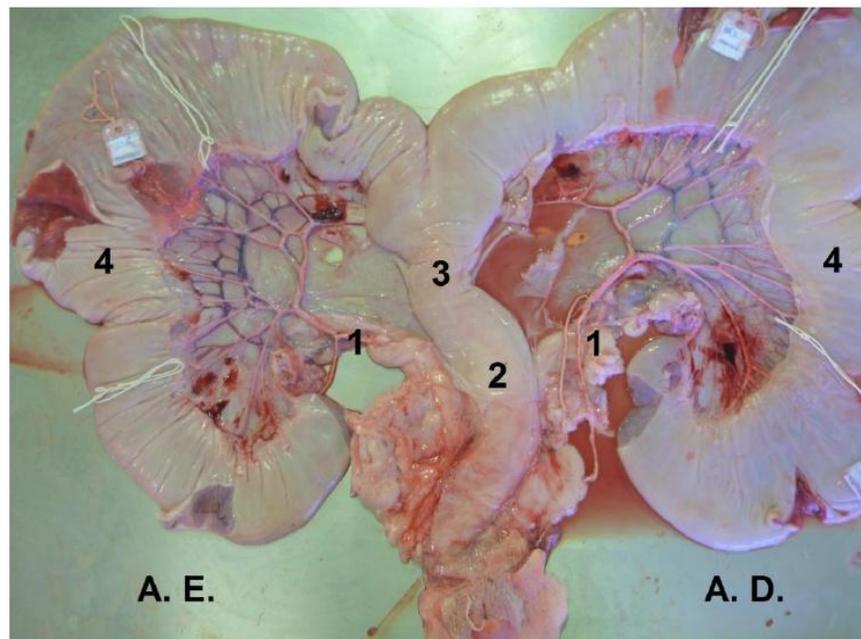


Figura 1 Distribuição arterial uterina em suínos. Artéria uterina (1), cérvix (2), corpo do útero (3), corno uterino (4), antímero direito (A.D) e antímero esquerdo (A.E)

Fonte: Guimarães et al. (2014).

Artérias vaginais e ováricas, também, têm aporte sanguíneo para o útero. Fêmeas suínas hiperprolíficas apresentam aumento do número de leitões no útero, fato que nem sempre é acompanhado na mesma proporção pelo fluxo do sangue, o que ocasiona variação na nutrição fetal e, com isso, crescimento desuniforme (PÈRE; ETIENE, 2000). Também, a posição do feto no útero materno pode influenciar o desenvolvimento pré-natal e a vida pós-natal do animal. Alguns estudos relatam não ter encontrado diferenças em relação à posição fetal, porém, com o aumento do número de conceptos no útero, esse fator deve ser considerado importante e válido para ser avaliado (ASHWORTH et al., 2001). Os estudos de Guimarães et al. (2014) revelam que há diferenças na vascularização uterina em suínos. Eles encontraram um maior número de vasos destinados à região média dos cornos uterinos, independente da idade gestacional (50, 80 ou 106 dias) ou do corno uterino (direito e esquerdo). Porém, essa característica não influenciou o desenvolvimento de fetos em marrãs, ao não observar correlação entre o número e diâmetro das artérias destinadas ao útero e o peso da placenta ou o número e peso dos fetos em qualquer idade gestacional.

2.3 Miogênese em Suínos

A miogênese é o processo de desenvolvimento do tecido muscular. Este desenvolvimento pode ser classificado, basicamente, em três fases: embrionária, fetal e pós-natal. Estas fases correspondem à miogênese primária, secundária e pós-natal, respectivamente (DU et al., 2015; WIGMORE; STICKLAND, 1983). Na fase embrionária, as fibras musculares são originadas com base nas células do mesênquima, onde células precursoras miogênicas denominadas mioblastos proliferam, para formar miotubos primários e secundários e, finalmente, diferenciam-se em fibras musculares (Figura 2).

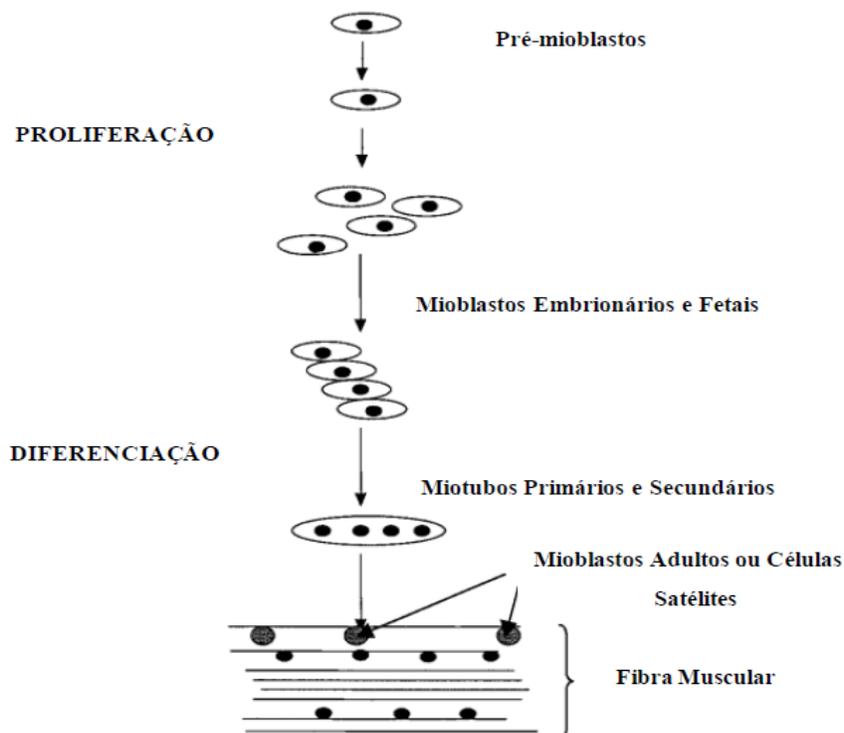


Figura 2 Estágios de formação das fibras musculares

Fonte: (PICARD et al., 2002).

Antes do início da miogênese secundária ou fetal, o diâmetro dos miotubos primários aumenta duas vezes e logo eles diminuem seu tamanho até o final da gestação, em que fibras primárias e secundárias apresentam diâmetro semelhante (Figura 3). A segunda geração de fibras utiliza os miotubos primários como moldura, gerando uma população maior. Em suínos, mais de 20 fibras secundárias se encontram ao redor de cada fibra primária. Estas fibras secundárias aumentam seu diâmetro, gradativamente, até o nascimento (Figura 3). Em decorrência do grande número de fibras musculares secundárias que necessitam ser formadas, a miogênese, nesta segunda etapa, é suscetível ao

estresse, originado pela subnutrição materna, que associado à lotação uterina, afeta o desenvolvimento das fibras musculares do feto tanto em número com em tamanho. Além disso, o desenvolvimento do músculo esquelético tem menor prioridade na partição de nutrientes do que o sistema neural, órgãos internos e ossos, sendo, então, influenciado pelas flutuações de nutrientes (DU et al., 2015).

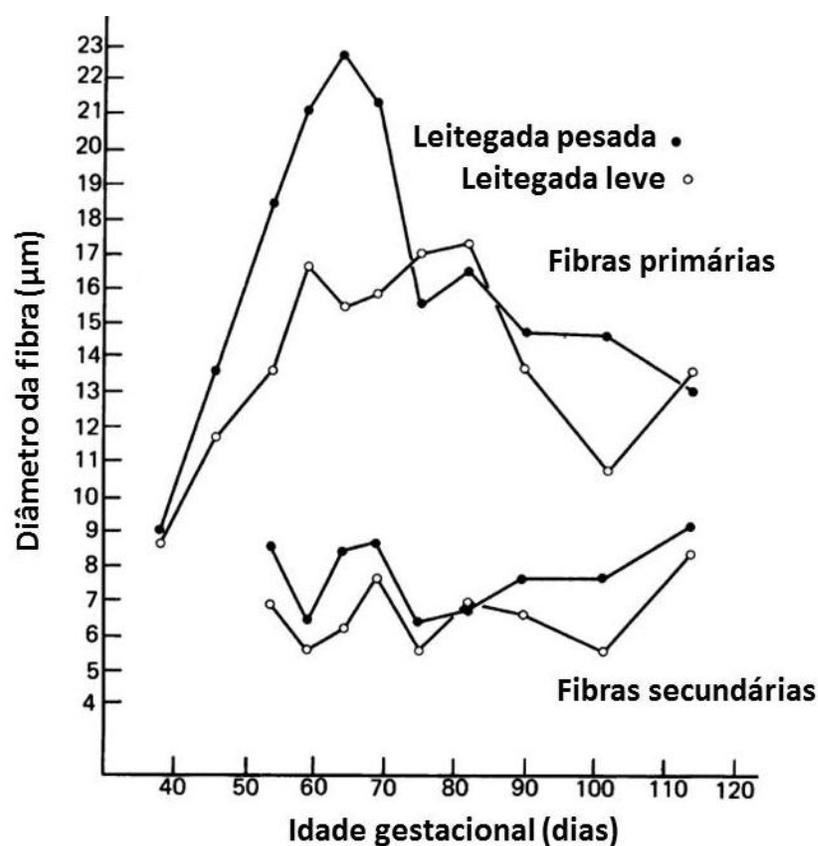


Figura 3 Diâmetro de fibras musculares primárias e secundárias em diferentes idades gestacionais em leitegadas pesadas e leves

Fonte: Adaptado de Wigmore e Stickland (1983).

Em suínos, o desenvolvimento embrionário do tecido muscular inicia-se com a formação de fibras musculares primárias originadas de células miogênicas. As fibras musculares primárias se desenvolvem entre os dias 35 e 55 de gestação, por intermédio da rápida fusão dos mioblastos para formar miotubos primários (Figura 4). Entre os dias 55 a 90-95 de gestação, surge uma segunda geração de miotubos que originam as fibras musculares secundárias, as quais se formam ao redor dos miotubos primários (Figura 5). Após 95 dias, o número total de fibras musculares é fixo, mas a hipertrofia e maturação muscular continuam (Figura 6).

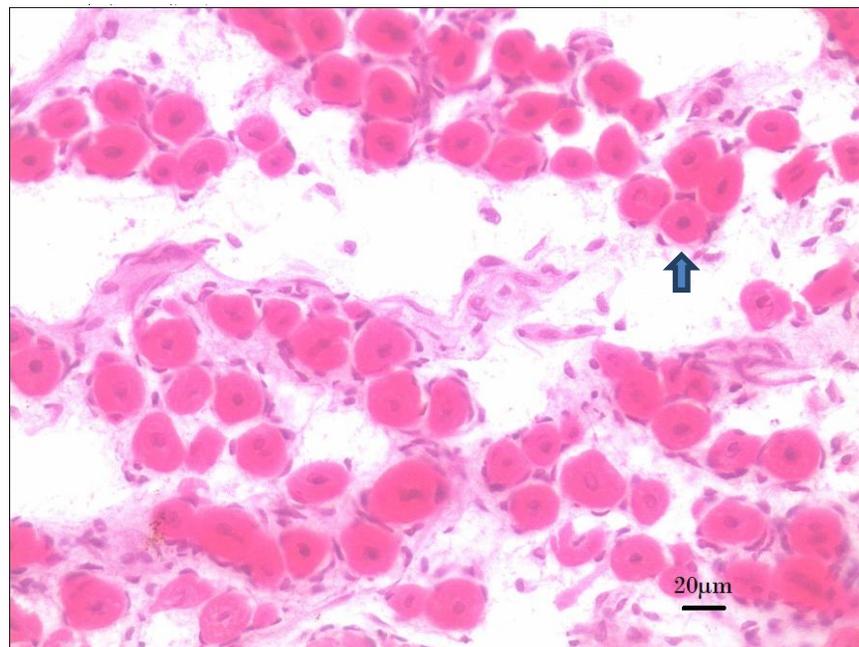


Figura 4 Fotomicrografia de corte transversal do músculo *semitendíneo* de fetos suínos no dia 50 de gestação. Nota-se a ocorrência de fibras musculares primárias com núcleo central

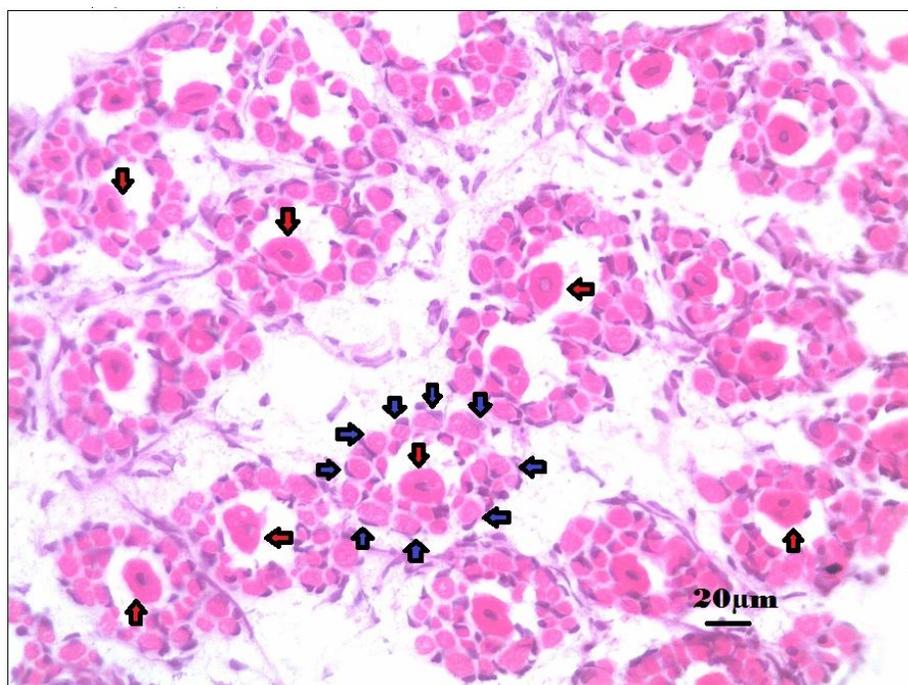


Figura 5 Fotomicrografia de corte transversal do músculo *semitendíneo* de fetos suínos no dia 80 de gestação. É possível observar fibras musculares primárias (Setas vermelhas) com núcleo central e fibras musculares secundárias (Setas azuis) com núcleo na periferia

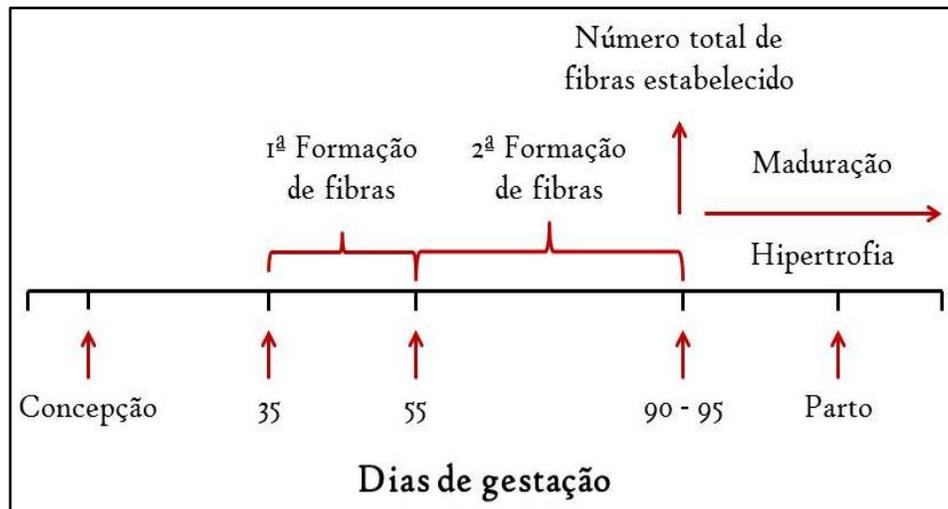


Figura 6 Representação esquemática do desenvolvimento das fibras musculares em suínos

Fonte: Adaptado de Wigmore e Stickland (1983).

Eventos e fatores pré-natais como o genótipo, o sexo, a nutrição da porca, o fluxo de oxigênio e nutrientes por meio da placenta (relacionados com o número e a posição dos fetos no útero), podem influenciar direta ou indiretamente a diferenciação das fibras musculares e determinar o número destas fibras bem como sua taxa de crescimento (WIGMORE; STICKLAND, 1983). Esses fatores assumem grande importância já que o número de fibras musculares está relacionado com o peso ao nascimento dos leitões e com seu desempenho durante toda a vida produtiva (DU et al., 2015).

A miogênese é regulada por um conjunto de fatores de transcrição e fatores reguladores da miogênese (FRMs) (WESTERWEEL; VERHAAR, 2008). Estes fatores atuam coordenadamente de modo que cada etapa da miogênese seja controlada pela expressão específica destes genes. Os genes Myf-5 e MyoD são encarregados de converter células pluripotentes em células precursoras de mioblastos; a miogenina inicia a diferenciação terminal dos

mioblastos em células musculares; o fator MRF4, fator envolvido na diferenciação terminal e regulador da expressão de MyoD e a miostatina, conhecida também como fator 8 de crescimento e diferenciação, limitam o crescimento do tecido muscular, provocando o desenvolvimento anormal deste (KASSAR-DUCHOSSOY et al., 2004). Outros estudos têm identificado outros tipos de fatores de transcrição que participam na diferenciação miogênica, entretanto, estes são menos pesquisados.

Na etapa pós-natal as miofibras representam 75-90% do volume do músculo e são multinucleadas, face à sua formação por fusão de mioblastos durante o desenvolvimento fetal. O seu diâmetro varia entre 10 e 100 μm e são geralmente classificados de acordo com suas propriedades contráteis e metabólicas (LEFAUCHEUR, 2010). Desta forma, o tecido muscular é composto, basicamente, por três tipos de fibras musculares: oxidativas de contração lenta (Tipo I, vermelhas e aeróbias), intermediárias de contração rápida (Tipo II B, oxidativas glicolíticas) e as glicolíticas de contração rápida (Tipo II A, brancas, anaeróbicas). A frequência de ocorrência de cada tipo de fibras no músculo é influenciada, principalmente, pela genética dos animais e pela nutrição durante o desenvolvimento pré-natal e pós-natal (LEFAUCHEUR, 2011; PICARD et al., 2002).

Nissen, Jorgensen e Oksbjerg (2004) comprovaram que, em animais adultos, o tipo de fibra tinha relação com o desenvolvimento pré-natal de fibras musculares primárias e secundárias. Assim, fibras musculares tipo I ou oxidativas foram inicialmente formadas a partir de fibras primárias e fibras tipo II ou glicolíticas provém da formação de fibras musculares secundárias.

2.4 Desenvolvimento muscular e sua relação com o peso

Leitões de baixo peso estão relacionados com baixo número de fibras musculares, crescimento pós-natal comprometido e pior qualidade da carne ao abate (REHFELDT; KUHN, 2006).

A taxa de crescimento pós-natal dos suínos é determinada por diversos fatores, mas um dos mais relevantes e que está sendo estudado com maior frequência na literatura atual é o número de fibras musculares. Fatores pré-natais, no ambiente uterino, podem alterar a diferenciação das fibras musculares e determinar o número e tipo destas fibras bem como sua taxa de crescimento e leitões mais leves podem estar associados ao número menor de fibras musculares e crescimento pós-natal comprometido (SILVA et al., 2012). Town et al. (2004) constataram que a lotação do útero, aos 30 dias da gestação, mesmo moderada, compromete o subsequente desenvolvimento fetal e, especificamente, o número de fibras musculares secundárias fetais. Além disso, os autores encontraram, no dia 90 de gestação, diferenças significativas no peso médio da placenta e peso médio fetal, quando compararam leitegadas provenientes de um ambiente uterino relativamente lotado (14,4 fetos) e um ambiente uterino não lotado (9,4 fetos). Estas diferenças foram de 9,5 e 13,4%, respectivamente.

A queda e variação do peso dos leitões têm sido associadas ao fenômeno do crescimento intrauterino retardado (CIUR). CIUR é caracterizado pela redução no crescimento e desenvolvimento de embriões e fetos de mamíferos ou de seus órgãos, durante a gestação, sendo um fenômeno de grande incidência nas granjas suínas (WU et al., 2006). O melhoramento de características reprodutivas das fêmeas suínas causou um maior número de conceitos por ciclo reprodutivo, o que levou à superlotação do útero materno e à competição por nutrientes e oxigênio, gerando perdas da qualidade dos leitões, como baixo peso

ao nascimento, desuniformidade das leitegadas e variação do crescimento durante todas as etapas produtivas. Além disso, leitões CIUR são mais susceptíveis às doenças, possuem maior taxa de mortalidade e têm desempenho produtivo comprometido até o abate, causando grande impacto, muitas vezes, não estimado. Assim, leitões que apresentam este fenômeno são considerados inviáveis para o sistema produtivo (QUINIOU; DAGORN; GAUDRÉ, 2002).

Tem-se demonstrado que o CIUR pode afetar o desenvolvimento muscular do suíno; leitões CIUR, quando comparados com leitões normais, apresentaram um menor número de fibras musculares primárias, secundárias e totais, indicando o efeito negativo desta síndrome sobre a qualidade dos leitões ao nascimento que, por seu viés, compromete toda sua vida produtiva (BEAULIEU et al., 2010; BÉRARD et al., 2010; GONDRET et al., 2006).

Gondret et al. (2006) determinaram as relações entre as variações de peso ao nascimento, características histológicas musculares e as características da qualidade da carne em suínos. Eles observaram que a área das fibras musculares de suínos com peso ao nascimento baixo ($1,05 \pm 0,04$ kg) foram 14% menores à área das fibras de suínos com peso ao nascimento alto ($1,89 \pm 0,02$ kg), o que, segundo os autores, ocasionou uma piora da qualidade da carne observada em maior proporção pela perda da maciez no músculo *longíssimo*.

Alvarenga et al. (2012) investigaram as implicações da programação pré-natal sobre o desenvolvimento pós-natal, características de carcaça e qualidade de carne em dois grupos de suínos com peso ao nascer: alto peso (AP: 1,8-2,2 g) e baixo peso (BP: 0,8 e 1,2 g). Ficou evidenciado que todos os órgãos dos leitões AP foram mais pesados em relação ao grupo BP. Também os animais AP apresentaram maior peso ao final de todas as fases de produção e maior ganho de peso médio diário. Na análise histomorfométrica, um menor número de fibras musculares por mm^2 no músculo *semitendíneo* foi observado nos animais recém-nascidos e animais terminados do grupo BP. Na avaliação

quantitativa da carcaça, os animais do grupo AP apresentaram maior peso da carcaça quente, maior quantidade de carne na carcaça e maior rendimento dos cortes carré, pernil e paleta, em relação ao grupo dos animais BP, não foram encontradas diferenças na qualidade da carne.

Em outro estudo (VERSTEGEN et al., 2013), leitões selecionados para ter alto peso às 10 semanas de idade (26,8-30,9 kg) apresentaram maior peso muscular e área de secção transversal do músculo *semitendíneo* comparados com leitões selecionados para um baixo peso nesta idade (16,0-22,9 kg). Esta diferença se atribui a um aumento de 1,20 vezes no número total de fibras musculares totais e aumento de 1,34 vezes na área da secção transversal da fibra dos leitões pesados em comparação à dos leitões menos pesados na 10ª semana. Assim, um decréscimo no número e área de fibras musculares em razão das diferenças no desenvolvimento muscular pré-natal em suínos reduz permanentemente a massa muscular e afeta negativamente o desempenho pós-natal dos animais, incluindo prejuízos na qualidade da carne (DU et al., 2015; YANG et al., 2015).

REFERÊNCIAS

ALVARENGA, A. L. N. et al. Intra-uterine growth retardation affects birth weight and postnatal development in pigs, impairing muscle accretion, duodenal mucosa morphology and carcass traits. **Reproduction, Fertility and Development**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 387-395, May 2012.

ASHWORTH, C. J. et al. Causes and consequences of fetal growth retardation in pigs. **Reproduction**, Elmsford, v. 58, n. 1, p. 233-246, July 2001. Suplemento.

BEAULIEU, A. D. et al. Impact of piglet birth weight, birth order, and litter size on subsequent growth performance, carcass quality, muscle composition, and eating quality of pork. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 8, p. 2767-2778, Aug. 2010.

BÉRARD, J. et al. Intrauterine crowding decreases average birth weight and affects muscle fiber hyperplasia in piglets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 1, p. 3242-3250, June 2010.

BÉRARD, J.; KREUZER, M.; BEE, G. In large litters birth weight and gender is decisive for growth performance but less for carcass and pork quality traits. **Meat Science**, Barking, v. 86, n. 3, p. 845-851, Nov. 2010.

D'INCA, R.; GRAS-LE GUEN, C.; CHE, L.; et al. Intrauterine growth restriction delays feeding induced gut adaptation in term newborn pigs. **Neonatology**, Basel, v. 99, n. 3, p. 208-216, Mar. 2011.

D'INCA, R.; KLOAREG, M.; GRAS-LE GUEN, C.; *et al.* Intrauterine growth restriction modifies the developmental pattern of intestinal structure, transcriptomic profile, and bacterial colonization in neonatal pigs. **Journal of Nutrition**, Rockville, v. 140, n. 5, p. 925-931, Mar. 2010.

DU, M. et al. Fetal programming in meat production. Review. **Meat Science**, Barking, v. 109, n. 1, p. 40-47, Nov. 2015.

DZIUK, P. J.; POLGE, C.; ROWSON, L. E. Intra-uterine migration and mixing of embryos following egg transfer. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 23, p. 37-42, 1964.

ESTERWEEL, P.E; VERHAAR, M.C. Directing myogenic mesenchymal stem cell differentiation. **Circulation Research**, Heidelberglaan v. 103, n. 1, p. 560-561, Aug. 2008.

FERREIRA, R. **Suinocultura**: manual prático de criação. Viçosa: Aprenda fácil, 2012. 443 p.

FIX, J. S. et al. Effect of piglet birth weight on body weight, growth, backfat, and longissimus muscle area of commercial market swine. **Livestock Science**, Raleigh, v. 127, n. 1, p. 51–59, Jan. 2010.

FORD, S. P.; VONNAHME, K. A.; WILSON, M. E. Uterine capacity in the pig reflects a combination of uterine environment and conceptus genotype effects. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, n. 1, p. 66-73, Jan. 2002.

FOWDEN, A. L. et al. Programming placental nutrient transfer capacity. **Journal of Physiology**, Cambridge, n. 572, p. 5-15, Jan. 2006.

GOFF, A. K. Embryonic signals and survival. **Reproduction in Domestic Animals**, Belfast, v. 37, n. 3, p. 133-139, June 2002.

GONDRET, F. et al. Low birth weight is associated with enlarged muscle fiber area and impaired meat tenderness of the longissimus muscle in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 1, p. 93-103, Jan. 2006.

GREENWOOD, P. L. et al. **Managing the prenatal environment to enhance livestock productivity**. Dordrecht: Springer, 2010. 298 p.

GUIMARÃES, G. C. et al. Vascularization of broad ligament of uterus and its relationship with fetal and placental development in gilts. **Theriogenology**, Stoneham, v. 82, n. 2, p. 232–237, July 2014.

HYTTEL, P. et al. Nucleolar proteins and ultrastructure in preimplantation porcine embryos developed in vivo. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 63, n. 6, p. 1848-1856, Dec. 2000.

JAMIN, A. et al. Fatal effects of a neonatal high-protein diet in low-birth-weight piglets used as a model of intrauterine growth restriction. **Neonatology**, Basel, v. 97, n. 4, p. 321-328, June 2010.

KASSAR-DUCHOSSOY, L. et al. Mrf4 determines skeletal muscle identity in Myf5: Myod double-mutant mice. **Nature**, London, v. 431, p. 466-471, 2004.

LEFAUCHEUR, L. A second look into fibre typing: relation to meat quality. **Meat Science**, Barking, v. 84, n. 2, p. 257–270, Feb. 2010.

LEFAUCHEUR, L. et al. Muscle characteristics and meat quality traits are affected by divergent selection on residual feed intake in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, n. 4, p. 996–1010, Apr. 2011.

MEREDITH, M. J. Pig breeding and infertility. **Animal breeding and infertility**. Oxford: Blackwell Science, p. 278-353, 1995. 528 p.

MESA, H. et al. Selection for placental efficiency in swine: conceptus development. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, n. 12, p. 4217–4222, Dec. 2012.

NISSEN, P. M.; JORGENSEN, P. F.; OKSBJERG, N. Within-litter variation in muscle fiber characteristics, pig performance, and meat quality traits. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 2, p. 414-421, Feb. 2004.

PANZARDI, A. et al. Eventos cronológicos da gestação: da deposição dos espermatozoides no trato reprodutivo feminino ao desenvolvimento dos fetos. In: BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I. **Suinocultura em ação: a fêmea suína gestante**. 4. ed. Porto Alegre: UFRS, p. 43-71, 2007.

PARDO C. E. et al. Intrauterine crowding impairs formation and growth of secondary myofibers in pigs. **Animal**, London, v. 7, n. 3, p. 430-438, Oct. 2013.

PÈRE, M. C.; ETIENNE, M. Uterine blood flow in sows: effects of pregnancy stage and litter size. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 40, n. 4, p. 369-382, July/Aug. 2000.

PICARD, B. et al. Muscle fibre ontogenesis in farm animal species. **Reproduction, Fertility and Development**, Oxford, v. 42, n. 5, p. 415-431, Sept./Oct. 2002.

QUINIOU, N.; DAGORN, J.; GAUDRÉ, D. Variation of piglets' birth weight and consequences on subsequent performance. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 78, n. 1, p. 63-70, Nov. 2002.

REHFELDT C.; KUHN G. Consequences of birth weight for postnatal growth performance and carcass quality in pigs as related to myogenesis. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 13, p. 113-123, Apr. 2006.

ROPPA, L. Evolução do mercado mundial de suínos nos últimos 30 anos. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE SUÍNOS. **Produção de suínos: teoria e prática**. Brasília: Coordenação editorial Associação Brasileira de Criadores de Suínos, 2014. p. 23-29.

SILVA, A. A. et. al. Viabilidade do uso de leitões natimortos nos estudos de miogênese e desenvolvimento de órgãos vitais. **Semina: ciências agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 3353-3360, dez. 2012.

TOWN, S. et al. Number of conceptuses in utero affects porcine fetal muscle development. **Reproduction**, Oxford, v. 128, n. 3-4, p. 443-454, Feb. 2004.

VERSTEGEN, M. W. A. et al. Predicted high-performing piglets exhibit more and larger skeletal muscle fibers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 91, n. 12, p. 5589-5598, Dec. 2013.

WESTERWEEL, P. E.; VERHAAR, M. C. Directing myogenic mesenchymal stem cell differentiation. **Circulation Research**, Heidelberglaan, v. 103, n. 1, p. 560-561, Aug. 2008.

WIGMORE, P. M. C.; STICKLAND, N. C. Muscle development in large and small pig fetuses. **Journal of Anatomy**, London, v. 137, n. 2, p. 235-245, Sept. 1983.

WU, G. et al. Intrauterine growth retardation: implications for the animal sciences. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 9, p. 2316-2337, Dec. 2006.

YANG, X. R. et al. Lean and obese pig breeds exhibit differences in prenatal gene expression profiles of muscle development. **Animal**, London, v. 9, n. 1, p. 28-34, Jan. 2015.

SEGUNDA PARTE - ARTIGO

ARTIGO 1 Miogênese fetal de suínos em diferentes períodos gestacionais

JORGE YAIR PÉREZ PALENCIA

**ARTIGO FORMATADO DE ACORDO COM A NBR 6022 (ABNT, 2003),
conforme orienta o Manual de Normalização da UFLA.**

RESUMO

O presente experimento foi realizado objetivando-se avaliar os efeitos do sexo e da posição no útero sobre a miogênese de suínos em diferentes idades gestacionais. Foram utilizadas 15 fêmeas suínas primíparas, distribuídas em três grupos, de acordo com a idade gestacional de abate: 50, 80 e 106 dias. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial dois sexos (machos e fêmeas) x três regiões uterinas (ápice, média, base). Após o abate e retirada do trato reprodutivo, cada corno uterino foi dividido em três segmentos de mesmo comprimento: ápice, região mais próxima do ovário; base, região mais próxima do corpo uterino; e a região média, situada entre as anteriores. Os fetos foram pesados, identificados e abertos longitudinalmente para colheita do músculo *Semitendíneo* e posteriores análises morfológicas. Aos 50 dias de gestação, fetos machos se mostraram com maior ($P<0,05$) peso, quando comparados com as fêmeas, o qual foi acompanhado com uma tendência da área de fibras primárias ser maior para os fetos machos. O número de fibras primárias se correlacionou negativamente com o número de fetos presentes no útero. Aos 80 dias, fetos pertencentes à região da base apresentaram menor ($P<0,05$) área de fibras musculares secundárias quando comparados aos situados na região do ápice. A relação de fibras secundárias sobre primárias se correlacionou positivamente com o peso. Conclui-se que o sexo pode influenciar o desenvolvimento muscular de fetos em idades iniciais e a posição no útero afeta o desenvolvimento de fibras musculares secundárias, sendo os fetos da base do corno uterino os de menor desenvolvimento.

Palavras-chave: Capacidade uterina. Corno uterino. Crescimento intrauterino. Fibras primárias. Fibras secundárias.

1 INTRODUÇÃO

O crescente desenvolvimento da suinocultura tem trazido melhoras na produtividade da fêmea suína, expressa no aumento do número de leitões nascidos vivos (PÈRE; ETIENE, 2000; ROPPA, 2014). Entretanto, fêmeas hiperprolíficas geram leitões de baixo peso ao nascimento e leitegadas desuniformes, em decorrência da competição por nutrientes e oxigênio, própria de um ambiente intrauterino superlotado (FIX et al., 2010; FORD; VONNAHME; WILSON, 2002). Estas variações comprometem não só o desenvolvimento pré-natal, mas também o crescimento dos leitões, durante as etapas produtivas subsequentes, causando grande impacto econômico, muitas vezes, não estimado (GREENWOOD et al., 2010).

O desenvolvimento muscular, durante a gestação, pode ser influenciado por diversos eventos e fatores pré-natais, relacionados ao ambiente uterino, entre eles, o número de conceptos, a disponibilidade de nutrientes, a eficiência placentária e a distribuição vascular uterina podem ser citadas como os de maior relevância (ALMEIDA, 2009). Estes fatores podem influenciar direta ou indiretamente a diferenciação das fibras musculares e determinar o número destas fibras bem como sua taxa de crescimento (DU et al., 2015). Assim, o decréscimo do número e da área de fibras musculares, em razão das diferenças no desenvolvimento muscular pré-natal, reduz permanentemente a massa muscular e afeta negativamente o desempenho pós-natal dos animais, incluindo prejuízos na qualidade da carne. Isto é mais evidente na formação de fibras musculares secundárias entre os dias 55 e 95 de gestação pela maior

susceptibilidade a fatores estressantes do ambiente intrauterino (ZHU et al., 2008). Portanto, torna-se importante conhecer como esses aspectos, relacionados ao ambiente uterino, atuam sobre o desenvolvimento muscular do suíno, visando à otimização no desempenho pós-natal desses animais.

A literatura que associa fatores do ambiente uterino com a miogênese fetal de suínos, em diferentes períodos gestacionais, é escassa. Dessa forma, objetivou-se com o presente estudo avaliar a influencia do sexo e da posição no útero sobre a miogênese de suínos em diferentes períodos gestacionais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos descritos neste trabalho foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Lavras, protocolo número 079/11 (ANEXO A). Foram utilizadas 15 fêmeas suínas primíparas, de peso e idade semelhantes ($153,5 \pm 11,9$ kg, aproximadamente 240 dias, DB-90 da Genética Suína DB-DanBred, Patos de Minas, MG), que foram alojadas em gaiolas individuais de gestação (2,20 metros de comprimento x 0,60 metros de largura x 1,20 metros de altura) no Centro Experimental de Suínos (CES) da Universidade Federal de Lavras.

As fêmeas foram submetidas ao manejo de detecção de cio a partir dos 150 dias de idade dos animais, duas vezes ao dia, com auxílio de dois machos com, aproximadamente, 18 meses de idade em atividade reprodutiva e com alta libido, que foram passados na frente das gaiolas e alternados a cada turno. No quarto cio detectado, as marrãs foram inseminadas artificialmente com sêmen de um único reprodutor (Large White) de fertilidade, comprovada por meio de completa avaliação andrológica. Foram feitas três inseminações em cada fêmea, sendo a primeira no momento da constatação do reflexo de tolerância ao homem (0 hora), a segunda às 12 horas e a terceira às 24 horas. A última inseminação foi considerada como o dia 0 da gestação.

Até a detecção do cio e inseminação artificial, as fêmeas foram alimentadas com ração de reposição. Após a inseminação, as fêmeas foram alimentadas com duas rações de gestação, sendo uma para os dois terços iniciais de gestação e outra para o terço final de gestação. Todos os

animais receberam água *ad libitum* e as rações foram as adotadas no CES (ANEXO B), formuladas segundo as recomendações de Rostagno et al. (2011).

Aos 49, 79 e 105 dias de gestação, um grupo de cinco fêmeas em cada data foi encaminhado ao Frigorífico Ipê, localizado no município de Lavras-MG. Os animais foram alojados em baias de espera, sem acesso à ração até o abate. No dia seguinte, foi realizado o abate, após 13h de jejum alimentar, por meio de insensibilização elétrica e sangria, de acordo com as normas da Portaria Nº 711, de 1º de novembro de 1995 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1995).

Após o abate, todo o trato reprodutivo foi retirado e levado ao Laboratório de Fisiologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras, onde foram realizadas as colheitas de material. Cada corno uterino foi dividido em três segmentos de mesmo comprimento: ápice, região mais próxima do ovário, base, região mais próxima do corpo uterino e a região média, situada entre as anteriores (Figura 1). Em seguida, cada corno foi seccionado na região da curvatura maior até a visualização de cada unidade feto-placenta, nos respectivos segmentos uterinos.

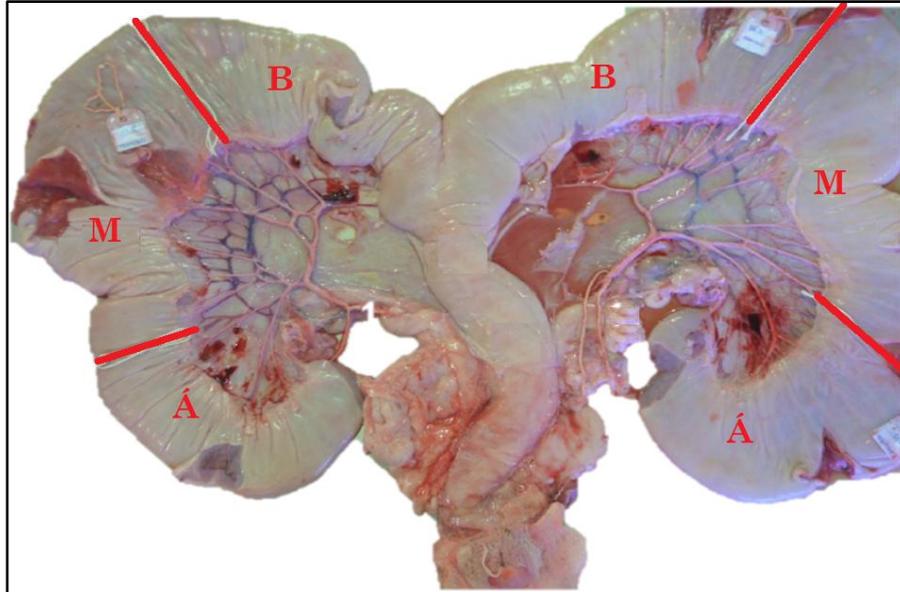


Figura 1 Regiões uterinas. Ápice (Á), Média (M) e Base (B)

Fonte: Adaptado de Guimarães et al. (2014).

Os fetos foram retirados do útero e pesados com auxílio de uma balança de precisão (Micronal®, modelo B400, São Paulo, Brasil).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial dois sexos (machos e fêmeas) x três regiões uterinas (ápice, média, base). Cada feto representou uma unidade experimental, sendo aos 50 dias N= 51, aos 80 dias N=67 e aos 106 dias N=56.

De cada feto, foi realizada a remoção do músculo *Semitendíneo*, pertencente ao grupo muscular da face caudal do membro pélvico esquerdo. Após colheita e tratamento com crioprotetor (talco neutro e isopentano), foi feita a criopreservação das amostras em nitrogênio

líquido a -196°C e, posteriormente, armazenadas em freezer a -80°C até a criotomia.

Foram obtidos cortes do músculo *Semitendíneo* de 12 μm de espessura em criostato a -20°C , que foram colocados em lâminas. Para garantir cortes ideais do músculo, foram feitos três cortes na linha horizontal e três na linha transversal de cada amostra, de forma que, para cada amostra, foram obtidas duas lâminas com três cortes horizontais e três cortes transversais cada. Para as análises morfológicas de número de fibras e diâmetro, foi utilizada a técnica de coloração em Hematoxilina e Eosina. O procedimento para esta técnica foi o mesmo adotado por Garbossa et al. (2015).

As amostras foram analisadas em microscópio de luz, OLYMPUS CX31, objetiva 40x, acoplado a uma câmera OLYMPUS SC30 para captura de imagens. Foram obtidas quatro imagens por amostra que foram analisadas no programa *Image J*[®] para a mensuração das características histológicas de fibras primárias e secundárias. O número de fibras foi quantificado com a ferramenta *Cell counter* do programa *Image J*[®] e a densidade de fibras foi mensurada com a ajuda da ferramenta *Grid* deste mesmo programa que permitiu quantificar o número de fibras em $15.000\ \mu\text{m}^2$. Para a área das fibras, foi utilizada a ferramenta *Straight*. Foram avaliadas as seguintes variáveis histológicas: no dia 50 de gestação: número de fibras primárias por campo (NFP), densidade de fibras primárias (DFP) e área de fibras primárias (AFP); no dia 80 de gestação: número de fibras primárias por campo (NFP), número de fibras secundárias por campo (NFS), número de fibras totais por campo (NFT), relação fibras secundárias/ fibras primárias por campo (RNSP), densidade

de fibras primárias (DFP), densidade de fibras secundárias (DFS), densidade de fibras totais (DFT), área de fibras primárias (AFP) e área de fibras secundárias (AFS); no dia 106: número de fibras totais por campo (NFT), densidade de fibras totais (DFT) e área de fibras totais (AFT).

Foi verificada a normalidade dos dados por meio do teste de Shapiro-Wilk. Os dados que não apresentaram distribuição normal foram transformados utilizando o procedimento PROC RANK do pacote estatístico SAS (9.3). A análise de variância foi realizada pelo procedimento PROC MIXED do pacote estatístico SAS (9.3), sendo as médias obtidas comparadas pelo teste Tukey a 5%. Diferenças estatísticas foram consideradas com $P < 0,05$ e tendências com P entre 0,05 e 0,10. Os dados obtidos, também, foram correlacionados entre si utilizando a correlação de Pearson por intermédio do PROC CORR do pacote estatístico SAS (9.3).

3 RESULTADOS

Um total de 175 fetos suínos foi utilizado no experimento, do qual observou-se maior número de machos em relação às fêmeas e maior concentração de fetos na região média do corno uterino, independentemente, da idade gestacional. O segmento uterino do ápice apresentou o menor número de fetos nas diferentes idades gestacionais (Tabela 1).

Tabela 1 Número de fetos suínos utilizados no experimento segundo o sexo e posição no útero

Dados	Períodos gestacionais (dias)		
	50	80	106
Número de fêmeas	5	5	5
Número de fetos viáveis	51	68	56
Número de fetos/fêmea	10,2	13,6	11,2
Sexo			
Machos	24	37	32
Fêmeas	27	31	24
Posição fetal*			
Ápice do corno uterino	15	16	12
Parte Média do corno uterino	19	30	22
Base do corno uterino	17	22	22

*Posição Fetal: ápice, região mais próxima do ovário, base, região mais próxima do corpo uterino e a região média, situada entre as anteriores.

A figura 2 corresponde a uma fotomicrográfica do desenvolvimento do músculo *Semitendíneo* de fetos suínos provenientes de fêmeas primíparas em diferentes períodos gestacionais, 50, 80 e 106 dias.

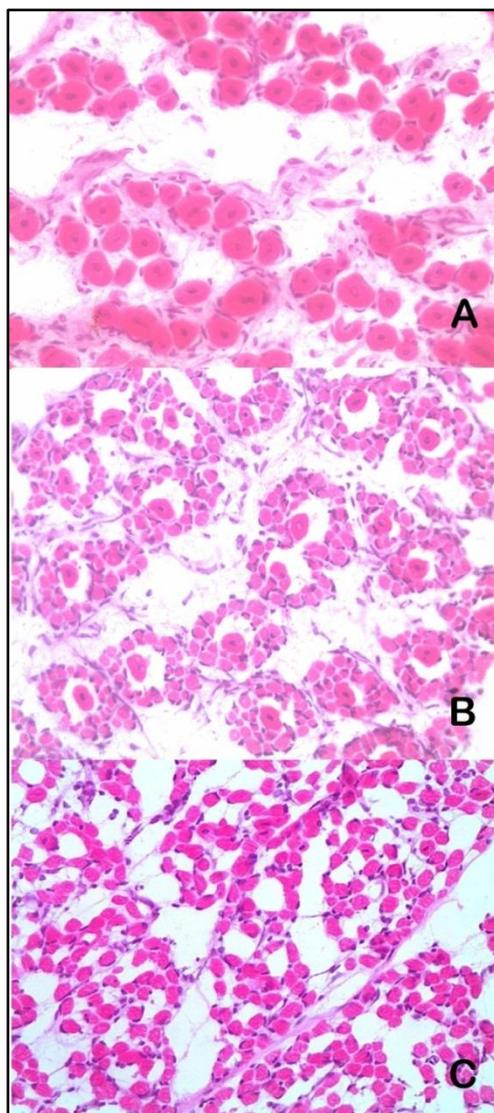


Figura 2 Fotomicrográficas do músculo *Semitendíneo* de fetos suínos aos 50 (A), 80 (B) e 106 (C) dias gestação. Objetivo 40x

Aos 50 dias de gestação, descritivamente foram encontradas fibras musculares primárias, caracterizadas por seu maior tamanho, por serem semicirculares e por possuir núcleo central (Figura 2A).

Aos 80 dias de gestação, fibras musculares primárias e secundárias foram visualizadas. Descritivamente, as fibras primárias se mostraram maiores e com núcleo central, enquanto fibras secundárias apresentaram um menor tamanho e núcleo situado na periferia. Entretanto, as fibras secundárias se localizavam ao redor das primárias e ambos os tipos celulares apresentaram formas entre semicircular e irregular (Figura 2B).

No último período gestacional, 106 dias, foram encontradas fibras musculares de tamanho semelhante e possuíam, na grande maioria, forma irregular (Figura 2C).

As características histológicas do músculo *Semitendíneo* de fetos suínos, relacionadas com o sexo e à posição no útero, aos 50 dias de gestação, são apresentadas na Tabela 2. Fetos machos se mostraram com maior ($P < 0,05$) peso quando comparados com as fêmeas. A área de fibras primárias teve uma tendência ($P = 0,0776$) a ser maior para machos em relação a fêmeas, enquanto o número e densidade de fibras primárias não foram influenciados pelo sexo.

Não houve efeitos ($P > 0,05$) da região uterina sobre as características histológicas mensuradas. Não houve interação ($P > 0,05$) do sexo com as regiões uterinas (Tabela 2).

Tabela 2 Características histológicas do músculo *Semitendíneo* de fetos suínos relacionadas com o sexo e a posição no útero aos 50 dias de gestação

Tratamento	SEXO		REGIÃO UTERINA			CV (%)	EP M	Valores de P		
	Macho	Fêmea	Ápice	Média	Base			Sexo	RU	Sexo*RU
Nº FETOS	24	27	15	19	17					
PESO (g)	46,03	40,44	42,99	44,44	42,26	14,9 3	2,27	0,0072	0,4610	0,6678
NFP	88,37	90,62	91,27	87,93	89,28	6,16	2,08	0,365	0,1714	0,9938
DFP	10,89	11,12	11,16	10,88	10,97	4,76	0,2	0,1163	0,2919	0,9219
AFP	4,12	3,64	3,92	3,96	3,75	19,4 9	1,27	0,0776	0,5898	0,3472

NFP = Número de fibras primárias por campo (40X); DFP = Densidade de fibras primárias em 15.000 μm^2 ; AFP = Área de fibras primárias (μm^2); RU = região uterina; CV = Coeficiente de variação; EPM = Erro padrão da média.

^{abcd} Médias seguidas por diferentes letras na linha diferem pelo teste Tukey (P<0,05).

Aos 50 dias de gestação, houve correlação negativa do número de fibras primárias com o número de fetos por região ($R^2 = -0,29$; $P = 0,04$) e com a área das fibras primárias ($R^2 = -0,31$; $P = 0,03$). Entretanto a densidade de fibras primárias foi correlacionada negativamente ($R^2 = -0,33$; $P = 0,02$) com a área de fibras primárias.

Nesse mesmo período, a área de fibras primárias apresentou correlações positivas com o número de fetos por região ($R^2 = 0,52$; $P = 0,0001$) e com o peso ($R^2 = 0,73$; $P < 0,0001$), ao tempo que correlações negativas com o número ($R^2 = -0,31$; $P = 0,03$) e densidade das fibras primárias ($R^2 = -0,33$; $P = 0,02$).

As características histológicas do músculo *Semitendíneo* de fetos suínos, aos 80 dias de gestação e em função do sexo e regiões uterinas, ápice, média e base, são apresentadas na Tabela 3. O sexo não teve efeito ($P > 0,05$) sobre as características histológicas do músculo *Semitendíneo* de fetos suínos aos 80 dias de gestação.

Fetos pertencentes à região do ápice apresentaram maior ($P < 0,05$) área de fibras musculares secundárias quando comparados aos situados na região da base (Tabela 3). Entretanto uma tendência ($P = 0,09105$) indica que fetos na região do ápice apresentam maior diâmetro de fibras primárias em relação aos fetos na região da base. De igual forma, esses fetos tenderam ($P = 0,0536$) a ser mais pesados. As demais características histológicas não foram influenciadas pela região uterina ($P > 0,05$).

Neste mesmo período, 80 dias, não houve interação ($P > 0,05$) entre o sexo e a posição do feto no corno uterino.

Tabela 3 Características histológicas do músculo *Semitendíneo* de fetos suínos relacionadas com o sexo e aposição no útero aos 80 dias de gestação

Tratamento	SEXO		REGIÃO UTERINA			CV (%)	EPM	Valores de P		
	Macho	Fêmea	Ápice	Média	Base			Sexo	RU	Sexo*RU
Nº FETOS	37	31	16	30	22					
PESO	399,03	404,94	426,70	415,75	363,50	21,85	38,46	0,7932	0,0536	0,6087
NFP	21,14	21,50	20,81	21,14	22,01	9,08	0,86	0,5909	0,1454	0,9350
NFS	349,64	354,14	344,23	348,94	362,51	8,55	13,42	0,7976	0,2627	0,8388
NFT	370,78	375,64	365,04	370,07	384,52	8,56	14,26	0,7516	0,2526	0,8587
RNSP	16,55	16,49	16,56	16,52	16,48	2,42	0,18	0,5436	0,8287	0,8267
DFP	2,21	2,16	2,15	2,15	2,26	10,82	0,11	0,6057	0,3382	0,7483
DFS	36,86	36,38	35,87	36,40	37,59	9,42	1,57	0,6479	0,4379	0,8667
DFT	39,07	38,63	38,02	38,56	39,97	9,62	1,7	0,7484	0,3774	0,8765
AFP	4,04	4,06	4,19	4,13	3,84	11,32	0,91	0,8952	0,1123	0,6761
AFS	2,08	2,14	2,22 a	2,14ab	1,98 b	12,27	0,49	0,3502	0,0167	0,8709

NFP = Número de fibras primárias/campo (40X); NFS = Número de fibras secundárias/campo (40X); NFT = Número de fibras totais/campo (40X); RNSP = Relação fibras secundárias/primárias; DFP = Densidade de fibras primárias em 15.000 μm^2 ; DFS = Densidade de fibras secundárias em 15.000 μm^2 ; DFT = Densidade de fibras totais em 15.000 μm^2 ; AFP = Área de fibras primárias (μm^2); AFS = Área de fibras secundárias (μm^2); RU = região uterina; CV = Coeficiente de variação; EPM = Erro padrão da média.

^{abcd} Médias seguidas por diferentes letras na linha diferem pelo teste Tukey (P<0,05).

Aos 80 dias, houve correlações positivas do número de fibras primárias com a região uterina ($R^2=0,24$; $P=0,05$) e o número de fibras secundárias ($R^2=0,96$; $P=<0,0001$). Entretanto correlações negativas com o peso ($R^2= -0,72$; $P=<0,0001$), relação de fibras secundárias sobre primárias ($R^2= -0,34$; $P=0,005$) e área fibras primárias e secundárias ($R^2= -0,62$; $P=<0,0001$ - $R^2= -0,62$; $P=<0,0001$).

O número de fibras secundárias teve correlação positiva com o número de fibras primárias ($R^2=0,96$; $P=<0,0001$) e correlações negativas com o peso ($R^2= -0,65$; $P=<0,0001$) e área de fibras primárias e secundárias ($R^2= -0,57$; $P=0,0001$ - $R^2= -0,59$; $P=<0,0001$).

O número de fibras totais encontrou-se correlacionado negativamente com o peso ($R^2= -0,66$; $P=<0,0001$) e área de fibras primárias e secundárias ($R^2= -0,57$; $P=0,0001$ - $R^2= -0,59$; $P=<0,0001$).

A relação de fibras secundárias sobre primárias teve correlação negativa com o número de fibras primárias ($R^2= -0,34$; $P=0,005$) e correlação positiva com o peso ($R^2=0,42$; $P=0,0003$).

Nesse mesmo período, a densidade de fibras primárias foi correlacionada negativamente com o peso ($R^2= -0,51$; $P=<0,0001$) e área de fibras primárias e secundárias ($R^2= -0,40$; $P=0,0007$ - $R^2= -0,43$; $P=<0,0001$). Entretanto a densidade de fibras secundárias foi correlacionada negativamente com o peso ($R^2= -0,56$; $P=<0,0001$) e área de fibras primárias e secundárias ($R^2= -0,42$; $P=0,0003$ - $R^2= -0,55$; $P=<0,0001$) aos 80 dias de gestação.

Por último, nesse mesmo período, 80 dias, a área de fibras primárias esteve correlacionada positivamente com o peso ($R^2=0,51$; $P=<0,0001$) e, negativamente, com a região uterina ($R^2= -0,33$; $P=0,0062$)

e com o número ($R^2 = -0,60$; $P < 0,0001$ - $R^2 = -0,57$; $P < 0,0001$) e densidade ($R^2 = -0,40$; $P = 0,0007$ - $R^2 = -0,42$; $P < 0,0002$) de fibras primárias e secundárias. Entretanto a área de fibras secundárias esteve correlacionada, positivamente, com o peso ($R^2 = 0,60$; $P < 0,0001$) e, negativamente, com a região uterina ($R^2 = -0,39$; $P = 0,0011$) e com o número ($R^2 = -0,59$; $P < 0,0001$ - $R^2 = -0,59$; $P < 0,0001$) e densidade ($R^2 = -0,55$; $P < 0,0001$ - $R^2 = -0,56$; $P < 0,0001$) de fibras primárias e secundárias.

Na fase final da gestação, aos 106 dias, não houve diferenças ($P > 0,05$) nas características histológicas do músculo *Semitendíneo* de fetos suínos quando se compararam machos e fêmeas aos 106 dias de gestação (Tabela 4).

Nesse mesmo período de gestação, a posição dos fetos dentro do corno uterino não influenciou ($P > 0,05$) as características histológicas estudadas.

Não houve interação ($P > 0,05$) entre o sexo dos fetos e a sua posição no corno uterino aos 106 dias de gestação (Tabela 4).

Tabela 4 Características histológicas do músculo *Semitendíneo* de fetos suínos relacionadas com o sexo e a posição no útero aos 106 dias de gestação

Tratamento	SEXO		REGIÃO UTERINA			CV (%)	EPM	Valores de P		
	Macho	Fêmea	Ápice	Média	Base			Sexo	RU	Sexo*R U
Nº FETOS	32	24	12	22	22					
PESO (g)	1185,16	1119,43	1204,67	1172,09	1080,14	15,99	75,42	0,2218	0,1559	0,8913
NFT	143,79	148,6	145,13	142,55	150,90	20,77	12,63	0,6111	0,3999	0,5140
DFT	19,49	19,81	19,35	19,01	20,60	16,82	1,36	0,7657	0,3216	0,4874
AFT (µm²)	2,81	2,84	2,90	2,87	2,72	15,69	0,84	0,8856	0,3153	0,8724

NFT = Número de fibras totais por campo (40X); DFT = Densidade de fibras totais em 15.000 µm²; AFT = Área de fibras totais (µm²); RU = região uterina; CV=Coefficiente de variação; EPM = Erro padrão da média.

^{abcd} Médias seguidas por diferentes letras na linha diferem pelo teste Tukey (P<0,05).

Aos 106 dias de gestação, o número de fibras totais esteve correlacionado negativamente com o peso ($R^2 = -0,41$; $P < 0,0018$) e a área das fibras totais ($R^2 = -0,64$; $P < 0,0001$). Entretanto a densidade teve correlações negativas com o peso ($R^2 = -0,59$; $P < 0,0001$) e com a área ($R^2 = -0,79$; $P < 0,0001$) de fibras totais.

Nesse mesmo período, área de fibras se encontrou correlacionada negativamente com o número ($R^2 = -0,64$; $P < 0,0001$) e densidade ($R^2 = -0,79$; $P < 0,0001$) de fibras totais, enquanto positivamente com o peso ($R^2 = 0,73$; $P < 0,0001$).

4 DISCUSSÃO

Os tipos celulares característicos do desenvolvimento muscular do suíno foram encontrados no presente estudo, sendo descritos ao longo das últimas décadas por vários autores (DU et al., 2015; MEREDITH, 1995; PANZARDI et al., 2007; WIGMORE; STICKLAND, 1983). Fibras primárias foram encontradas, aos 50 dias de gestação, enquanto fibras primárias e secundárias, aos 80 dias, sendo estes dois períodos pertencentes a primeira e segunda fase de formação de fibras musculares respectivamente. Aos 106 dias de gestação, as fibras musculares se encontram em crescimento por hipertrofia, semelhantes, morfologicamente, não sendo possível diferenciar fibras primárias de secundárias.

Observou-se que o sexo influenciou o peso dos fetos, aos 50 dias de gestação, mostrando que machos foram mais pesados que fêmeas e tiveram tendência a apresentarem maior área e maior diâmetro de fibras primárias. Estes resultados podem atribuir-se ao efeito da testosterona relatado por anteriores estudos (FORD; CHRISTENSON; MAURER, 1980; POWERS; FLORINI, 1975; SERRA et al., 2011), que mostram a participação deste hormônio no desenvolvimento fetal. Ford, Christenson e Maurer (1980) constataram que, a partir dos 30 dias de gestação, a concentração sérica de testosterona já se encontrava presente na artéria umbilical de fetos suínos, apresentando-se um pico deste hormônio, aos 35 dias de gestação, seguido de uma diminuição no decorrer da gestação. Os efeitos deste hormônio explicam a diferença de peso encontrada neste período de gestação, podendo, também, influenciar as características das

fibras musculares. No estudo de Bérard et al. (2010), a área transversal de fibras musculares de leitões ao nascimento foi encontrada maior em machos quando comparados às fêmeas.

A proliferação de fibras primárias ocorre na primeira fase de formação de fibras musculares e o seu número tem sido relatado como relativamente constante para uma mesma leitegada. Este primeiro grupo de fibras é resistente à influencia de fatores do ambiente uterino e obedece a um padrão genético predeterminado (WIGMORE; STICKLAND, 1983). Desta forma, explica-se o fato da posição dos fetos no útero não ter influenciado as características das fibras musculares primárias. Além disso, entre os períodos estudados, o dia 50 foi o período gestacional onde se encontrou a menor quantidade de fetos (10,2), o qual pode estar relacionado com uma distribuição mais uniforme no útero materno.

Ashworth et al. (2001) não encontraram diferenças no crescimento fetal para uma determinada posição no corno uterino. Entretanto, outros autores mostram que, em suínos, há diferenças na vascularização das diferentes regiões uterinas, mas essas diferenças não foram suficientes para influenciar o peso fetal aos 50, 80 e 106 dias de gestação (GUIMARÃES et al., 2014), enquanto Wise, Roberts e Christenson (1997) encontraram efeitos da posição fetal no terço final da gestação (dias 70 e 104), em que fetos posicionados nas extremidades dos cornos uterinos, região próxima aos ovários e região próxima ao corpo uterino, apresentaram-se mais pesados.

A os 80 dias de gestação, a posição dos fetos dentro do útero afetou o desenvolvimento das fibras secundárias. A segunda etapa de

formação de fibras musculares corresponde à formação de fibras secundárias. Em decorrência do grande número de fibras musculares secundárias, que necessitam ser formadas (até 20 por cada fibra primária), a miogênese, nesta segunda etapa, apresenta grande suscetibilidade ao estresse originado pela falta de nutrientes, reduzindo o número e a taxa de crescimento das fibras musculares do feto. Além disso, o desenvolvimento do músculo esquelético tem menor prioridade, quando comparado com o sistema neural, órgãos internos e ossos, sendo, então, influenciado pelas flutuações de nutrientes (DU et al., 2015; YANG et al., 2015; ZHU et al., 2008).

O fato dos fetos posicionados na região do ápice apresentarem maior área de fibras secundárias, quando comparados com os fetos da base do corno, pode ser explicado pelo menor número de fetos encontrados nessa região (29,4%) em relação às demais regiões, o que, possivelmente, ocasionou menor competição por espaço e nutrientes, não afetando seu desenvolvimento nesse período de gestação. Além disso, autores associam as variações no crescimento fetal a diferenças na vascularização uterina (ALMEIDA, 2009). Guimarães et al. (2014), ao avaliarem a vascularização uterina em primíparas, considerando as mesmas três regiões uterinas, ápice, média e base, observaram maior número de vasos destinados à região média dos cornos uterinos e tendência do calibre dos vasos serem maior na região do ápice. Isto mostra que a maior hipertrofia de fibras secundárias na região do ápice pode estar relacionada ao calibre dos vasos que são destinados a ela, enquanto o menor desenvolvimento de fetos na região da base pode estar relacionado ao fato desta região ter menor número de vasos. Entretanto, no presente estudo, os fetos

posicionados na região média não apresentaram diferenças com os das outras regiões, provavelmente, por ser esta a região com maior número de fetos (44,1%).

Outros pesquisadores (DZIUK, 1985; PERRY; ROWELL, 1969; WISE; ROBERTS; CHRISTENSON, 1997) mostram que fetos suínos, localizados nas extremidades dos cornos, teriam maiores vantagens, quando comparados com os posicionados na parte média dos cornos, visto que fetos nas extremidades dos cornos apresentariam maior peso. Entretanto, neste estudo, foi verificado maior desenvolvimento apenas para os fetos da região do ápice, provavelmente, associado ao maior aporte de nutrientes em função do maior calibre de vasos sanguíneos nesta região (GUIMARÃES et al., 2014).

Aos 80 dias de gestação, o sexo não influenciou as características histológicas do músculo *Semitendíneo* de fetos suínos e aos 50 dias houve diferença. Estes resultados podem ser associados ao declive das concentrações de testosterona, após 35 dias de gestação, que suprimem os efeitos anabólicos sobre o sexo masculino (FORD; CHRISTENSON; MAURER, 1980).

Geralmente tem-se considerado que menor peso está relacionado com um menor número de fibras musculares (REHFELDT; KUHN, 2006), o contrário foi observado no presente estudo. As correlações aos 80 e 106 dias de gestação indicam que menor peso está associado à maior número e densidade de fibras primárias, secundárias e totais. A explicação para este comportamento dos resultados pode estar relacionado com o tamanho das fibras musculares, em uma mesma área fibras de menor tamanho poderiam estar mais concentradas quando

comparadas com fibras de maior tamanho que ocupariam um maior espaço. Isto é válido ao encontrar correlações positivas do peso com a área das fibras nesses mesmos períodos gestacionais; fetos de maior peso foram associados com maior área de fibras primárias, secundárias e totais. Além disso, variações na metodologia utilizada explicam a controvérsia dos resultados, mas outros trabalhos (ALVARENGA et al., 2012; VERSTEGEN et al., 2013) quantificaram o número total de fibras musculares tendo em consideração a área total ou peso do músculo, o qual não foi considerado neste trabalho. Assim, fetos suínos de maior peso poderiam ter maior densidade de fibras primárias.

Nesse mesmo período gestacional, 80 dias, a relação entre fibras musculares primárias e secundárias foi correlacionada positivamente com o peso; isto nos leva a pensar que a queda da hiperplasia e hipertrofia de fibras secundárias afetou negativamente o peso dos fetos. O prejuízo sobre a hiperplasia e hipertrofia das fibras secundárias pode estar relacionado ao déficit de nutrientes, provocado pelo aumento do número de fetos no útero e, nesse período, teve-se o maior número de fetos viáveis por fêmeas (13,6) e o 38% encontraram-se na região da base do corno, região onde os fetos apresentaram menor desenvolvimento. Entende-se que a lotação uterina está relacionada com menor fluxo de oxigênio e nutrientes por concepto e com menor espaço para seu desenvolvimento, ocasionando queda do crescimento e variação do peso (FIX et al., 2010).

Aos 106 dias de gestação, não houve efeitos do sexo e da posição dos fetos no útero sobre as características histológicas estudadas. O terço final de gestação é caracterizado pelo maior desenvolvimento fetal, que,

associado ao aumento do número de leitões no útero, ocasionam menor fluxo de oxigênio e nutrientes por concepto e menor espaço para seu desenvolvimento, limitando o crescimento fetal e aumentando a variação de peso (FIX et al., 2010; MCPHERSON et al., 2004;). Estes efeitos são tão marcados nessa etapa final que, mesmo com diferenças na vascularização uterina (GUIMARÃES et al., 2014) entre as regiões dos cornos, a posição fetal e o sexo não influencia as características do músculo *Semitendíneo* aos 106 dias de gestação como foi encontrado no presente estudo.

Há poucos trabalhos na literatura que associem a posição fetal no útero com a miogênese fetal de suínos em diferentes períodos gestacionais. Assim, os resultados deste estudo deixam bases muito interessantes sobre os fatores do ambiente uterino que podem afetar o desenvolvimento e crescimento fetal em matrizes suínas hiperprolíficas e proporciona novas possibilidades de estudo para dar continuidade às investigações desses fatores pré-natais que influenciam a vida pós-natal dos animais, uma vez que é de grande importância a busca por estratégias que alcancem a máxima produtividade dentro do sistema de produção de suínos.

5 CONCLUSÃO

O sexo pode influenciar o desenvolvimento muscular de fetos em idades iniciais. A posição fetal influencia o desenvolvimento de fibras secundárias aos 80 dias de gestação, sendo os fetos da base do corno uterino os que apresentam menor desenvolvimento e os da região do ápice, maior área de fibras secundárias. O número de fibras primárias, aos 50 dias gestação, correlaciona-se, negativamente, com o número de fetos presentes no útero. A miogênese influencia o peso fetal aos 80 e 106 dias.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Federal de Lavras pela disponibilidade das instalações para a condução deste trabalho. À FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais) e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, pelo auxílio financeiro e apoio na condução da pesquisa.

ABSTRACT

This experiment was conducted to evaluate the effects of gender and fetus position within the uterus over swine myogenesis, at different gestational ages. We used fifteen primiparous sows, divided into three groups according to gestational age at slaughter: 50, 80, and 106 days. The experimental design was completely randomized, in a 2 x 3 factorial design - two genders (male and female) x three uterine regions (apex, middle, base). After slaughter and removal of the reproductive tract, each uterine horn was divided into three segments of equal length: apex region, closest to the ovary; base region, closest to the uterine body; and the middle region, located between the above. The fetuses were weighed, identified and open longitudinally in order to harvest the semitendinosus muscle and, later, perform morphological analysis. After 50 days of pregnancy, male fetuses showed higher ($P < 0.05$) weight when compared with female, in addition to presenting tendency for greater primary fiber area. The number of primary fibers was negatively correlated with the number of fetuses within the uterus. After 80 days, fetuses belonging to the base region had lower ($P < 0.05$) secondary muscle fiber area when compared to fetuses from the apex. The ratio of secondary: primary fibers was positively correlated with weight. In conclusion, gender may influence muscle development in fetuses at early development stages, and the position in the uterus affects the development of secondary muscle fibers. Fetuses of the base region presented the lowest development.

Keywords: Uterine capacity. Uterine horn. Intrauterine growth. Primary fiber. Secondary fiber.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. R. C. L. Influência da nutrição da fêmea sobre a qualidade do leitão ao nascer. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 37, n. 1, p. 31-33, May 2009.

ALVARENGA, A. L. N. et al. Intra-uterine growth retardation affects birthweight and postnatal development in pigs, impairing muscle accretion, duodenal mucosa morphology and carcass traits. **Reproduction, Fertility and Development**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 387-395, May 2012.

ASHWORTH, C. J. et al. Causes and consequences of fetal growth retardation in pigs. **Reproduction**, Oxford, v. 58, n. 1, p. 233-246, July 2001. Suplemento.

BÉRARD, J. et al. Intrauterine crowding decreases average birth weight and affects muscle fiber hyperplasia in piglets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 1, p. 3242-3250, June 2010.

BÉRARD, J.; KREUZER, M.; BEE G. In large litters birth weight and gender is decisive for growth performance but less for carcass and pork quality traits. **Meat Science**, Barking, v. 86, n. 3, p. 845-851, Nov. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 711, de 1 de novembro de 1995. Aprovação das normas técnicas de instalações e equipamentos para abate e industrialização de suínos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1 nov. 1995. Disponível em: <<http://www.mapa.gov.br>>. Acesso em: 02 maio 2014.

DU, M. et al. Fetal programming in meat production: review. **Meat Science**, Barking, v. 109, n. 1, p. 40-47, Nov. 2015.

DZIUK, P. J. Effect of migration, distribution and spacing of pig embryos on pregnancy and fetal survival. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 33, p. 57-63, 1985. Suplemento.

FIX, J. S. et al. Effect of piglet birth weight on body weight, growth, backfat, and longissimus muscle area of commercial market swine. **Livestock Science**, Raleigh, v. 127, n. 1, p. 51–59, Jan. 2010.

FORD, J. J.; CHRISTENSON, R. K.; MAURER, R. R. Serum testosterone concentrations in embryonic and fetal pigs during sexual differentiation. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 23, n. 3, p. 583-587, Oct. 1980.

FORD, S. P.; VONNAHME, K. A.; WILSON, M. E. Uterine capacity in the pig reflects a combination of uterine environment and conceptus genotype effects. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, n. 1, p. 66-73, Jan. 2002.

GARBOSSA, C. A. P. et al. Effects of ractopamine and arginine dietary supplementation for sows on growth performance and carcass quality of their progenies. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 93, n. 6, p. 2872-2884, June 2015.

GREENWOOD, P. L. et al. **Managing the prenatal environment to enhance livestock productivity**. Dordrecht: Springer, 2010. 298 p.

GUIMARÃES, G. C. et al. Vascularization of broad ligament of uterus and its relationship with fetal and placental development in gilts. **Theriogenology**, Stoneham, v. 82, n. 2, p. 232-237, July 2014.

MCPHERSON, R. L. et al. Growth and compositional changes of fetal tissues in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 9, p. 2534-2540, Sept. 2004.

MEREDITH, M. J. Pig breeding and infertility. **Animal breeding and infertility**. Oxford: Blackwell Science, p. 278-353, 1995. 528 p.

PANZARDI, A. et al. Eventos cronológicos da gestação: da deposição dos espermatozoides no trato reprodutivo feminino ao desenvolvimento dos fetos. In: BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I. **Suinocultura em ação: a fêmea suína gestante**. 4. ed. Porto Alegre: UFRS, p. 43-71, 2007.

PÈRE, M. C.; ETIENNE, M. Uterine blood flow in sows: effects of pregnancy stage and litter size. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 40, n. 4, p. 369-382, July/Aug. 2000.

PERRY, J. S.; ROWELL, J. G. Variations in foetal weight and vascular supply along the uterine horn of the pig. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 19, n. 1, p. 527-534, Jan. 1969.

POWERS, M. L.; FLORINI, J. R. A direct effect of testosterone on muscle cells in tissue culture. **Endocrinology**, Baltimore, v. 97, n. 4, p. 1043-1047, Oct. 1975.

REHFELDT, C.; KUHN, G. Consequences of birth weight for postnatal growth performance and carcass quality in pigs as related to myogenesis. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 13, p. 113–123, Apr. 2006.

ROPPA, L. Evolução do mercado mundial de suínos nos últimos 30 anos. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE SUÍNOS. **Produção de suínos: teoria e prática**. Brasília: Coordenação editorial Associação Brasileira de Criadores de Suínos, 2014. p. 23-29.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa: Editora da UFV, 2011. 252 p.

SERRA, C. et al. The role of GH and IGF-I in mediating anabolic effects of testosterone on androgen-responsive muscle. **Endocrinology**, Baltimore, v. 152, n. 1, p. 193-206, Jan. 2011.

VERSTEGEN, M. W. A. et al. Predicted high-performing piglets exhibit more and larger skeletal muscle fibers, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 91, n. 12, p. 5589–5598, Dec. 2013.

WIGMORE, P. M. C.; STICKLAND, N. C. Muscle development in large and small pig fetuses. **Journal of Anatomy**, v. 137, n. 2, p. 235-245, Sept. 1983.

WISE, T.; ROBERTS, A. J.; CHRISTENSON, R. K. Relationships of light and heavy fetuses to uterine position, placental weight, gestational age, and fetal cholesterol concentrations, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 8, p. 2197-2207, Aug. 1997.

YANG, X. R. et al. Lean and obese pig breeds exhibit differences in prenatal gene expression profiles of muscle development. **Animal**, London, v. 9, n. 1, p. 28-34, Jan. 2015.

ZHU, M. J. et al. AMP-activated protein kinase signalling pathways are down regulated and skeletal muscle development impaired in fetuses of obese, over nourished sheep. **Journal Physiology**, Laramie, v. 586, n. 10, p. 2651-2664, May 2008.

ANEXOS

ANEXO A - Certificado da comissão de ética no uso de animais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Cx. P. 3037 - Lavras - MG - 37200-000 - (35) 3829-5182 cba@nintec.ufla.br

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 079/11**, relativo ao projeto intitulado "**Avaliação dos segmentos vasculares uterinos e sua influência no desenvolvimento feto-placentário de suínos (*Sus scrofa*)**", que tem como responsável **Gregório Corrêa Guimarães** está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela **Comissão de Ética no Uso de Animais (Comissões Permanentes/PRP-Ufla)**, tendo sido aprovado na reunião de 19/12/2011.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 079/11**, related to the project entitled "**Evaluation of uterine vascular segments and its influence on fetal-placental development of pigs (*Sus scrofa*)**", under the supervision of **Gregório Corrêa Guimarães**, is in agreement with the Ethics Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Bioethic Committee in Utilization of Animals (Comissões Permanentes/PRP-Ufla)**, and was approved in **December 19, 2011**.

Lavras, 19 de dezembro de 2011.

Prof. Gabriela Rodrigues Sampaio
Presidente em exercício da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

Universidade Federal de Lavras
Pró-Reitoria de Pesquisa (Comissões Permanentes)
Campus Universitário -
Caixa Postal 3037 / CEP 37200-000 - Lavras, MG - Brasil
Tel. +55 (35) 3829 5182
cba@nintec.ufla.br - www.prp.ufla.br

ANEXO B - Rações experimentais

	PB (%)	EM (Mcal/K g)	Lis dig	Cálcio	Fosforo disponível	Consumo Kg/dia
Lactação						
Flushing	19,950	3,400	1,036	0,770	0,395	2,0
Gestação						
0 – 70 dias	11,580	3,184	0,450	0,691	0,370	2,0
70 – 114 dias	13,320	3,175	0,630	0,714	0,386	3,0

Fonte: Rostagno et al. (2011).

ANEXO C - Valores de correlação de Pearson (R^2) e respectivos valores de probabilidade (P) entre as características e variáveis histológicas do músculo *Semitendíneo* de fetos suínos aos 50 dias de gestação

Variável	NFP		DFP		AFP	
	R^2	P	R^2	P	R^2	P
RU	-0,15	0,30	-0,15	0,28	-0,07	0,63
NFR	-0,29	0,04	-0,22	0,13	0,52	0,0001
CLA	-0,20	0,15	-0,15	0,29	0,68	<0,0001
PESO	-0,24	0,09	-0,21	0,13	0,73	<0,0001
NFP	1	-	0,75	<0,0001	-0,31	0,03
DFP	0,75	<0,0001	1	-	-0,33	0,02
AFP	-0,31	0,03	-0,33	0,02	1	-

RU = Região uterina; NFR = Número de fetos por região; CLA = Classe de peso; NFP = Número de fibras primárias por campo (40X); DFP = Densidade de fibras primárias em 15.000 μm^2 ; AFP = Área de fibras primárias (μm^2).

ANEXO D - Valores de correlação de Pearson (R²) e respectivos valores de probabilidade (P) entre as características e variáveis histológicas do músculo *Semitendíneo* de fetos suínos aos 80 dias de gestação

Variável	NFP		NFS		NFT		RNSP		DFP		DFS	
	R ²	P	R ²	P	R ²	P	R ²	P	R ²	P	R ²	P
RU	0,24	0,05	0,23	0,06	0,23	0,06	-0,09	0,45	0,15	0,21	0,18	0,14
NFR	0,14	0,26	0,13	0,29	0,13	0,29	-0,07	0,60	0,01	0,99	0,07	0,60
CLA	-0,56	<0,0001	-0,48	<0,0001	-0,48	<0,0001	0,42	0,0003	0,40	0,0007	0,45	0,0001
PESO	-0,72	<0,0001	-0,65	<0,0001	-0,66	<0,0001	0,42	0,0003	-0,51	<0,0001	-0,56	<0,0001
NFP	1	-	0,96	<0,0001	0,97	<0,0001	-0,34	0,005	0,45	0,0001	0,50	<0,0001
NFS	0,96	<0,0001	1	-	1,00	<0,0001	-0,07	0,57	0,42	0,0003	0,46	<0,0001
NFT	0,97	<0,0001	1,00	<0,0001	1	-	-0,09	0,48	0,43	0,0003	0,46	<0,0001
RNSP	-0,34	0,005	-0,07	0,57	-0,09	0,48	1	-	-0,18	0,13	-0,23	0,06
DFP	0,45	0,0001	0,42	0,0003	0,43	0,0003	-0,18	0,13	1	-	0,88	<0,0001
DFS	0,50	<0,0001	0,46	<0,0001	0,46	<0,0001	-0,23	0,06	0,88	<0,0001	1	-
DFT	0,51	<0,0001	0,48	<0,0001	0,48	<0,0001	-0,22	0,08	0,90	<0,0001	1,00	<0,0001
AFP	-0,60	<0,0001	-0,57	<0,0001	-0,57	<0,0001	0,19	0,12	-0,40	0,0007	-0,42	0,0003
AFS	-0,62	<0,0001	-0,59	<0,0001	-0,59	<0,0001	0,20	0,11	-0,53	<0,0001	-0,55	<0,0001

RU = Região uterina; NFR = Número de fetos por região; CLA = Classe de peso; NFP = Número de fibras primárias por campo (40X); NFS = Número de fibras secundárias por campo (40X); NFT = Número de fibras totais/campo (40X); RNSP = Relação fibras secundárias/primária. DFP = Diâmetro de fibras primárias em 15.000 μm^2 ; DFS = Diâmetro de fibras secundárias em 15.000 μm^2 ; DFT = Diâmetro de fibras totais em 15.000 μm^2 ; AFP = Área de fibras primárias (μm^2); AFS = Área de fibras secundárias (μm^2).

“ANEXO D, Continuação”

Variável	<u>DFT</u>		<u>RDSP</u>		<u>AFP</u>		<u>AFS</u>	
	R ²	P						
RU	0,19	0,13	0,01	0,91	-0,33	0,0062	-0,39	0,0011
NFR	0,06	0,60	0,13	0,28	-0,06	0,62	-0,02	0,85
CLA	0,45	0,0001	-0,01	0,94	0,37	0,0017	0,47	<0,0001
PESO	-0,56	<0,0001	0,03	0,89	0,51	<0,0001	0,60	<0,0001
NFP	0,51	<0,0001	-0,02	0,89	-0,60	<0,0001	-0,62	<0,0001
NFS	0,48	<0,0001	-0,03	0,80	-0,57	<0,0001	-0,59	<0,0001
NFT	0,48	<0,0001	-0,03	0,81	-0,57	<0,0001	-0,59	<0,0001
RNSP	-0,22	0,08	-0,04	0,73	0,19	0,12	0,20	0,11
DFP	0,90	<0,0001	-0,48	<0,0001	-0,40	0,0007	-0,53	<0,0001
DFS	1,00	<0,0001	-0,02	0,87	-0,42	0,0003	-0,55	<0,0001
DFT	1	-	-0,05	0,69	-0,44	0,0002	-0,56	<0,0001
AFP	-0,44	0,0002	0,07	0,58	1	-	0,91	<0,0001
AFS	-0,56	<0,0001	0,11	0,39	0,91	<0,0001	1	-

RU = Região uterina; NFR = Número de fetos por região; CLA = Classe de peso; NFP = Número de fibras primárias por campo (40X); NFS = Número de fibras secundárias por campo (40X); NFT = Número de fibras totais/campo (40X); RNSP = Relação fibras secundárias/primárias. DFP = Diâmetro de fibras primárias em 15.000 μm^2 ; DFS = Diâmetro de fibras secundárias em 15.000 μm^2 ; DFT = Diâmetro de fibras totais em 15.000 μm^2 ; AFS = Área de fibras secundárias (μm^2).

ANEXO E - Valores de correlação de Pearson (R^2) e respectivos valores de probabilidade (P) entre as características e variáveis histológicas do músculo *Semitendíneo* de fetos suínos aos 106 dias de gestação

Variável	NFT		DFT		AFT	
	R^2	P	R^2	P	R^2	P
RU	0,04	0,77	0,14	0,30	-0,19	0,17
NFR	-0,06	0,65	-0,06	0,65	-0,01	0,94
CLA	-0,31	0,02	-0,49	0,0001	0,58	<0,0001
PESO	-0,41	0,0018	-0,59	<0,0001	0,73	<0,0001
NFT	1	-	0,86	<0,0001	-0,64	<0,0001
DFT	0,86	<0,0001	1	-	-0,79	<0,0001
AFT	-0,64	<0,0001	-0,79	<0,0001	1	-

RU = Região uterina; NFR = Número de fetos por região; CLA = Classe de peso; NFT = Número de fibras totais por campo (40X); DFT = Densidade de fibras totais em 15.000 μm^2 ; AFT = Área de fibras totais (μm^2).