



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRICOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

**“SUPLEMENTACIÓN DE VITAMINA E Y
SELENIO A BORREGAS GESTANTES Y SUS
EFECTOS EN LAS CRÍAS”**

ARAELY MONSALVO GARCÍA

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS

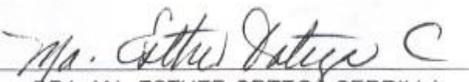
**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO
2010.**

La presente tesis titulada: "Suplementación de vitamina E y selenio a borregas gestantes y sus efectos en las crías", realizada por la alumna: Araely Monsalvo García, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

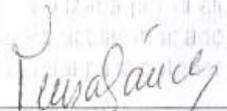
MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

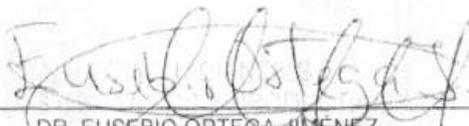
CONSEJERO


DRA. MA. ESTHER ORTEGA CERRILLA

ASESOR


DRA. MA. TERESA SÁNCHEZ-TORRES ESQUEDA

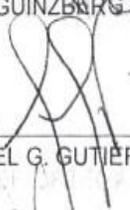
ASESOR


DR. EUSEBIO ORTEGA JIMÉNEZ

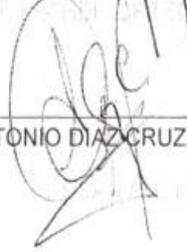
ASESOR


DRA. RAQUEL GUINZBERG FERRUSQUIA

ASESOR


DR. JOSÉ ÁNGEL G. GUTIÉRREZ PABELLO

ASESOR


DR. ANTONIO DÍAZ CRUZ

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO, 2010.

AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados por brindarme la oportunidad de realizar los estudios de maestría en el Programa de Ganadería Campus Montecillo y a la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme realizar parte de la investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Colegio de Postgraduados, por el apoyo económico y la oportunidad de realizar mis estudios de doctorado.

A la Dra. María Esther Ortega Cerrilla por permitirme participar en su trabajo de investigación, por guiarme durante la realización, y por la oportunidad de realizar mis estudios de maestría bajo su dirección.

A la Dra. Ma. Teresa Sánchez-Torres Esqueda, por su apoyo incondicional y consejos para mejorar la escritura y redacción de la tesis.

Al Dr. Eusebio Ortega Jiménez, por sus consejos muy acertados para mejorar la redacción y presentación de la tesis.

A la Dra. Raquel Guinzberg Perrusquía, por sus valiosas aportaciones para la escritura de la tesis.

Al Dr. Antonio Díaz Cruz, por su tiempo, su apoyo y las observaciones para mejorar la presentación de la tesis.

Al Dr. José Ángel Gutiérrez Pabello, por sus consejos para mejorar la redacción de la tesis.

A la Dra. María Magdalena Crosby Galván, por su apoyo en el laboratorio durante la realización de la investigación.

Al MVZ. José Luis Cordero, por su apoyo en el campo durante la realización de la investigación.

Al Dr. José G. Herrera y al Dr. Humberto Vaquera, por su apoyo en el análisis estadístico y diseño experimental.

Al Sr. Jacinto Altamirano, a la Sra. Ana Espinoza, y a la Sra. Celsa Frago, por el apoyo recibido en sus respectivas áreas.

A todos los profesores, amigos y trabajadores del CP, quienes de una u otra forma intervinieron en mi formación académica y profesional.

DEDICATORIA

A mi madre Araceli García Portugués, que a lo largo de mi vida me ha apoyado en forma incondicional y sin medida.

A mi querido Miguel Hernández Ventura y a nuestro pequeño Carlos Miguel, que me han acompañado y han permitido realizarme como mujer, profesionalista y madre.

A mis Hermanas Elizabeth, Marieli, Magdali, Elian y Rosely, por brindarme su apoyo incondicional.

A todos mis sobrinos, porque ellos son el impulso a seguir adelante y trabajar para forjar un mejor futuro para todos.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
I. INTRODUCCIÓN	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Alimentación y nutrición en la producción de borregos.....	5
2.2 Antioxidantes en la producción animal.....	6
2.3 El papel del selenio como micronutriente esencial.....	7
2.4 La Vitamina E como α -tocoferol.....	10
2.5 Sinergia: selenio-vitamina E.....	12
2.6 El selenio y la vitamina E en la respuesta inmune de los corderos.	13
III. OBJETIVOS	15
IV. HIPÓTESIS	15
V. MATERIALES Y MÉTODOS	16
5.1 Localización.....	16
5.2 Animales.....	16
5.3 Alimentación.....	16
5.4 Tratamientos.....	18
5.5 Suplementación.....	18
5.6 Variables evaluadas.....	18
5.6.1 Identificación y cuantificación de gammaglobulinas en suero.	19
5.6.2 Cuantificación de la actividad de GSH-Px en sangre.....	20

CONTENIDO

	Página
5.6.3 Cuantificación de Se total en sangre.....	21
5.6.4 Peso de los corderos al nacimiento.....	22
5.7 Toma de Muestras.....	22
5.8 Análisis Estadístico.....	23
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	24
6.1 Identificación y cuantificación de gammaglobulinas en suero.....	24
6.2 Cuantificación de la actividad de GSH-Px en sangre.....	27
6.3 Cuantificación de Se total en sangre.....	30
6.4 Peso de los corderos al nacimiento.....	33
VII. CONCLUSIONES	36
VIII. RECOMENDACIONES	37
IX. LITERATURA CITADA	37
X. ANEXOS	44
1. Identificación de las borregas utilizadas en el proyecto.....	44
2. Datos individuales de la actividad enzimática de GSH-Px.....	45
3. Datos individuales de Se en sangre.....	46
4. Datos individuales de peso al nacimiento de los corderos.....	47

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Porcentajes de ingredientes en la dieta.....	17
Cuadro 2. Análisis de la dieta en base seca.....	17
Cuadro 3. Concentración de gammaglobulinas (gdl^{-1}) en borregas gestantes y a momento del parto	24
Cuadro 4. Resultados estadísticos de MANOVA Wilks Lamda para gammaglobulinas (gdl^{-1}) en borregas.....	25
Cuadro 5. Concentración de NADPH (nmoles de NADPH oxidados mg^{-1} de proteína min^{-1}).....	28
Cuadro 6. Resultados estadísticos de MANOVA Wilks Lamda para NADPH (nmoles NADPH oxidados mg^{-1} de proteína min^{-1}).....	29
Cuadro 7. Valores promedio de la concentración de Selenio (ppb) en Sangre.....	30
Cuadro 8. Resultados estadísticos de MANOVA Wilks Lamda para Se (ppm) en sangre.....	31
Cuadro 9. Peso promedio en gramos de los corderos al nacimiento..	33

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Concentración de gammaglobulinas (gdl^{-1}).....	26
Figura 2. Concentración de NADPH (nmoles de NADPH oxidados mg^{-1} de proteína min^{-1}).....	29
Figura 3. Cuantificación de Selenio total en sangre (ppb).....	32
Figura 4. Pesos de los corderos al nacimiento (g).....	34

SUPLEMENTACION DE VITAMINA E Y SELENIO A BORREGAS GESTANTES Y SUS EFECTOS EN LAS CRIAS

RESUMEN

Se sabe que el proporcionar selenio (Se) y vitamina E (vit E) en niveles adecuados se mejora la actividad reproductiva, sin embargo existen pocos trabajos en los que se haya evaluado el proporcionar un suplemento de Se y vit E a borregas primerizas durante la etapa de gestación hasta el momento del parto. En este trabajo se tuvieron 21 borregas gestantes Dorset, Suffolk y cruce de ambas, con peso vivo promedio de 55 ± 10 kg y un año de edad, las que se distribuyeron al azar en cuatro tratamientos (T): T1) testigo (6 repeticiones); T2) suplemento con Se (0.2 ppm kg^{-1} alimento d^{-1}) (5 repeticiones); T3) suplemento con vit E ($400 \text{ U.I. animal}^{-1}$) (5 repeticiones) y T4) suplemento con Se y vit E (5 repeticiones). El suplemento se dio cada día a las borregas, desde el primer mes de gestación hasta el parto. Se tomaron muestras de sangre para cuantificar el Se total y se obtuvo suero sanguíneo para determinar la concentración de gammaglobulinas y la actividad enzimática de glutatión peroxidasa (GSH-Px). Las muestras se tomaron en el tercer mes de gestación y al momento del parto, también se tomó el peso de los corderos al nacer. El diseño experimental fue completamente al azar utilizando el procedimiento MIXED, además se realizó un análisis de varianza multivariado para evaluar el cambio en las variables de respuesta. No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) en ninguna de las variables evaluadas al tercer mes de gestación o al parto, ni en el peso de los corderos al nacer. Los resultados de este estudio muestran que la suplementación de Se y vit E en los niveles usados en esta investigación, no aumentaron la concentración de gammaglobulinas, selenio, ni la actividad de GSH-Px, así como tampoco se mejoró el peso de los corderos al nacimiento.

Palabras clave: Selenio, vitamina E, GSH-Px, gammaglobulinas, borregas.

VITAMIN E AND SELENIUM SUPPLEMENTATION AND ITS EFFECTS ON PREGNANT EWES AND THEIR LAMBS

ABSTRACT

It is well known that adequate levels of selenium (Se) and vitamin E (vit E) improve reproductive performance. However research on the effect of Se and vit E supplementation in first served ewes from pregnancy to birth is limited. Twenty one pregnant ewes (Dorset, Suffolk and Dorset X Suffolk, 55 ± 10 kg, one year old) were randomly assigned to four treatments: T1) Control (6 replicates); T2) supplemented with Se ($0.2 \text{ ppm kg}^{-1} \text{ feed d}^{-1}$) (5 replicates); T3) supplemented with vit E ($400 \text{ U.I. animal}^{-1}$) (5 replicates), and T4) supplemented with Se and vit E (5 replicates). Se and vit E were supplemented daily from the first month of gestation until birth. Blood samples were taken to determine Se, gamma-globulin concentration and the enzymatic activity of glutathione peroxidase (GSH-Px). Samples were taken during the third month of pregnancy and at birth, lambs weight was also recorded at birth. Data were analyzed for a completely randomized design, by the MIXED procedure and by multivariate analysis. No differences ($P>0.05$) were found due to treatment for any of the variables evaluated neither during pregnancy or at birth, or in lambs birth weight. The results obtained showed that supplementation with Se and vit E at the levels used in this study, did not have any effect to improve gamma-globulin concentration, selenium, GSH-Px activity or weight of lambs at birth.

Key words: Selenium, vitamin E, GSH-Px, gamma-globulin, ewes.

I. INTRODUCCIÓN

Gran parte de las moléculas presentes en el organismo son químicamente estables, tienen un número par de electrones en su orbital externo; pero existen otras cuyo número de electrones en el orbital externo es impar, estas sustancias químicas altamente inestables y reactivas se conocen como radicales libres (RL), (Ceballos *et al.*, 1998). Cuando un RL interactúa con una sustancia estable, toma de ella un electrón cargando positivamente la molécula; así, el compuesto estable (no radical) se convierte en un RL altamente agresivo, pudiendo generar más radicales, dando lugar a una reacción en cadena (Chihuailaf *et al.*, 2002).

Los RL cumplen una importante función en variados procesos homeostáticos como intermediarios en reacciones de oxidación-reducción esenciales para la vida. Las concentraciones bajas de RL son beneficiosas e incluso indispensables, sin embargo, en cantidades excesivas son tóxicos (Chihuailaf *et al.*, 2002), tal es el caso del oxígeno, que aun siendo esencial para la vida, es también tóxico por ser una sustancia oxidante ya que puede aceptar electrones desestabilizando a la molécula que lo pierde; por lo tanto en el metabolismo aerobio se producen oxidantes denominados metabolitos oxigenados reactivos (MOR), entre los que se cuentan el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$)¹, radicales hidroxilo (OH^{\cdot}) y radicales alcoxy (RO^{\cdot}), entre otros, que sin ser radicales libres como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) químicamente también se comportan como oxidantes (Ceballos *et al.*, 1998).

Afortunadamente los organismos aeróbicos poseen un sistema antioxidante (AO) protector que limita la acción nociva de los RL. Este sistema protector se compone de enzimas y nutrimentos esenciales, cuya función es evitar la formación de RL, capturar aquellos que se han formado y remover o reparar la biomoléculas dañadas. La generación de RL y la defensa AO se encuentran en equilibrio; al romperse este equilibrio se crea una situación llamada estrés oxidativo, que puede producir daño celular, desencadenar trastornos fisiológicos y favorecer la presentación de procesos patológicos (Chihuailaf *et al.*, 2002).

La glutatión peroxidasa (GSH-Px) es una metaloenzima que forma parte del sistema glutatión, señalado como el principal sistema antioxidante del organismo (Ceballos *et al.*, 1998). La deficiencia de selenio (Se) en los animales, así como de vitamina E, inducen una baja actividad de GSH-Px, dejando la célula expuesta a la acción nociva de los MOR, lo que produce alteraciones en la estructura de los lípidos, proteínas, polisacáridos, DNA y otras macromoléculas celulares que participan directa o indirectamente en el funcionamiento de algunas hormonas, asociado a la presentación de algunas patologías como la enfermedad del músculo blanco, retención de placenta, inmunosupresión, infertilidad, abortos, parto prematuro, mortinatos, crías débiles, metritis, disminución de la tasa de concepción, periodos de estro débil o silente, diarreas, entre otros (Ceballos *et al.*, 2003).

En atención a la importancia que revisten estos requerimientos nutritivos de los animales destinados a la producción, dado que el comportamiento productivo está directamente relacionado con el tipo de alimentación que reciben, sin olvidar aspectos como la raza, la edad, el sexo y el estado fisiológico del animal conviene revisar algunos elementos que intervienen en ello.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Alimentación y nutrición en la producción de borregos

El sector pecuario juega un papel crucial en la agricultura de la región de América Latina. No solamente debido a la necesidad de proteína de origen animal en la dieta de la población, sino también porque los animales, sobre todo los rumiantes, tienen la capacidad de convertir alimentos de muy baja calidad como forrajes fibrosos y sub-productos agrícolas en productos de alta calidad nutritiva.

Los sistemas de producción predominantes en México, son los de tipo semi-intensivo e intensivo, los cuales, están basados en la estabulación y el uso de grandes cantidades de grano, así como el empleo de razas de lana y sus cruza con razas de pelo. Estos sistemas se caracterizan por lograr una alta ganancia diaria de peso y conversión alimenticia (Sánchez, 2001). Sin embargo, la producción de carne de borrego bajo condiciones de pastoreo es lenta y poco eficiente, existe alta mortalidad y bajos rendimientos. Este sistema se caracteriza por la ausencia de prácticas de tipo sanitario, nutricionales y reproductivas (Díaz, 1999).

En función de los sistemas de explotación más utilizados en la actualidad, la producción animal puede definirse como una industria de transformación en la que intervienen una serie de factores, tales como la fabricación de alimentos para el ganado, mano de obra, gastos en alojamiento e instalaciones, etc., en productos útiles para el hombre tales como alimentos, pieles y lana, además del estiércol como abono para las plantas.

De los insumos usados en la producción animal, la más importante desde el punto de vista cuantitativo son los alimentos para el ganado, pues presentan de un 50 a un 85% de los gastos totales de las explotaciones (De Blas *et al.*, 1987).

El borrego es un animal adaptado a consumir gran variedad de alimentos, pero es necesario conocer los requerimientos de éste en cada una de sus etapas y tratar de

llenar éstas, bien sea a base de forraje o bien con suplemento, ya que los requerimientos nutricionales de los borregos, aumentan a medida que crecen más, sobre todo cuando llegan a su estado reproductivo (Ensminger y Olentine, 1985).

Las necesidades de minerales y vitaminas en los animales, deben ser cubiertas mediante una alimentación adecuada para evitar carencia o toxicidad de estos. Cuando se produce un aporte nutricional inadecuado o en proporciones incorrectas, la función reproductiva es la más afectada, lo que conlleva a su vez, a una disminución en la productividad y la rentabilidad de las explotaciones (Tedó y Casas, 2005).

2.2 Antioxidantes en la producción animal

Los organismos evolucionados han desarrollado una serie de mecanismos de defensa contra ciertas formas de oxígenos fuertemente reactivos que producen productos altamente tóxicos como el anión superóxido (O_2^-), hidroxilo (OH^-), junto con peróxidos de hidrogeno (H_2O_2). Muchas investigaciones han puesto de manifiesto que los radicales libres ejercen su acción patógena dañando la integridad de las membranas celulares puesto que son capaces de fijarse a un carbono de la cadena alquilo de una ácido graso iniciando la peroxidación lipídica, además de que favorecen las etapas de inicio y promoción de enfermedades, tales como el enfermedad del músculo blanco, retención placentaria, dificultades para la concepción, quistes ováricos y mastitis, aparte de retraso de crecimiento, además de afectar diversos componentes celulares, entre ellos los ácidos grasos poliinsaturados, las proteínas y hasta el propio ADN (Lozano, 2000; Spears, 1996).

Los radicales libres de oxígeno contienen uno o más electrones no apareados que causan daño oxidativo a las células y provocan reacciones en cadena; estas reacciones sólo son eliminadas por la acción de otras moléculas que se oponen a este proceso tóxico en el organismo, los llamados sistemas antioxidantes defensivos (Céspedes y Sánchez, 2000).

Las defensas antioxidantes naturales que protegen al organismo contra el daño causado por los radicales libres oxigenados, incluyen enzimas (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa), vitaminas (C y E), carotenoides, terpenos, flavonoides y ácido alfa lipoíco (Lozano, 2000).

Los antioxidantes pueden ser definidos como sustancias cuya acción consiste en inhibir la tasa de oxidación de los nocivos radicales libres. Existen antioxidantes naturales (tocoferoles) presentes en el organismo, pero también antioxidantes sintéticos (BHT, BHA, TBHQ). Dentro de cada grupo, los antioxidantes pueden ser enzimas que aumentan la velocidad de ruptura de los radicales libres, otros que previenen la participación de iones de metal de transición en la generación de radicales libres y los inactivadores o barredores. Estas sustancias protegen de las infecciones, del deterioro celular y del envejecimiento prematuro, además desempeñan una importante función para la prevención de numerosas patologías como problemas cardiovasculares, tumorales y enfermedades degenerativas entre otras (Bendich, 1990; Lozano, 2000; Huerta *et al.*, 2005).

2.3 El papel del selenio como micronutriente esencial

A pesar de que se han hecho considerables avances en años recientes, el conocimiento del metabolismo relacionado con los minerales traza en los animales y los desbalances en el consumo son todavía la causa de grandes pérdidas económicas en la producción animal.

Aunque el organismo contiene muchos elementos minerales, sólo se han demostrado 15 esenciales para los ovinos, siete son los minerales mayores y ocho oligoelementos. Los principales macrominerales son: NaCl, Ca, K, P, Mg y S. Los principales oligoelementos que intervienen son: I, Fe, Mn, Mb, Se y Zn.

El selenio (Se) juega un papel importante en la integridad funcional del aparato reproductor, la función tiroidea y el funcionamiento normal del sistema inmunológico de los ovinos (Leyan, 2004), junto con la vitamina E realiza diversas funciones en los

sistemas reproductivo, nervioso, muscular, esquelético, hematopoyético e inmune (Anderson *et al.*, 1979).

El selenio puede existir como selenuros (Se^{2-}), selenio elemental (Se^0), selenito (SeO_3^{2-}) y selenato (SeO_4^{2-}). Cada estado de oxidación muestra un comportamiento químico diferente. Los selenuros y el selenio elemental se presentan en ambientes ácidos, reductores y ricos orgánicamente, son insolubles y por lo tanto no son biológicamente disponibles. Los procesos químicos y biológicos pueden reducir el selenito a selenio elemental, lo cual limita su movilidad en el ambiente y su disponibilidad para los animales, sin embargo, la oxidación de selenito a selenato, puede incrementar la movilidad del selenio por ser biológicamente disponible debido a la solubilidad de sus sales y su pobre adsorción por partículas (Romero, 2008).

El selenio consumido por los animales ya sea en alimentos y/o suplementos se presenta en varias formas orgánicas (la selenometionina proveniente de fuentes animales, vegetales y suplementos; la selenocisteína únicamente de fuentes animales) y de formas inorgánicas (selenato y selenito: en suplementos).

Las sales inorgánicas más utilizadas como suplemento han sido el selenito y selenato de sodio; sin embargo, en la actualidad existen de manera comercial suplementos con sales orgánicas que pueden ser incorporados en la dieta de los rumiantes. Estos productos son obtenidos a partir del cultivo de cepas específicas de *Saccharomyces cerevisiae* en medios ricos en selenio inorgánico para sintetizar sales orgánicas, principalmente selenometionina (Romero, 2008).

Las diferencias en cuanto a la disponibilidad del selenio, pueden ser debidas a las diversas formas de liberación del selenio del alimento durante la digestión en el animal o los distintos destinos en el organismo de las formas químicas en las cuales el selenio es absorbido (Del Razo, 2002). Sin embargo, la cantidad de selenio absorbido es menor en rumiantes que en no rumiantes ya que gran cantidad del

selenio en forma activa es reducido a selenuros no disponibles (Ceballos y Wittwer, 1996).

La mayor absorción de selenio en los rumiantes ocurre en el intestino delgado y ciego (NRC, 1985), no obstante, en el retículo-rumen, una parte del selenito y selenato consumidos se transforman a selenio elemental, del cual una parte se incorpora a la proteína microbiana como selenometionina y la otra se metaboliza a selenio insoluble, que no puede ser utilizado ni por el animal ni por los microorganismos. La selenometionina y el selenato son absorbidos por transporte activo, mientras que la selenocisteína y el selenito son absorbidos por difusión pasiva. Una vez absorbido, el selenio se une a proteínas transportadoras (albúmina) para ser incorporadas directamente a selenoproteínas en el hígado. Del hígado y todavía unido a las globulinas, el selenio viaja al torrente sanguíneo para distribuirse en diferentes centros de almacenamiento y tejidos como riñones, músculo y corazón (Ceballos y Wittwer, 1996).

El selenio proveniente de selenometionina se absorbe en un elevado porcentaje, alrededor del 98%, liberándose 4% por heces y 15% por la orina, dentro de los doce días posteriores a la ingestión (Del Razo, 2002).

Las rutas de excreción de selenio se hacen por heces fecales, orina, leche, bilis, saliva, pulmones y eructo, pero la vía más importante en los rumiantes es la orina, dado que más de la mitad del selenio ingerido es transformado por los microorganismos ruminales a una forma no absorbible (Ceballos y Wittwer, 1996).

La secreción de selenio en la leche es importante y se da por un proceso de biorreducción, uniéndose a la fracción proteica de la leche, principalmente la caseína y, parte al suero y grasa. Las concentraciones de selenio en calostro de borregas son de cuatro a cinco veces más altas que en la leche. La transferencia de selenio a través de la leche es más eficiente que a través de la placenta, pero la

suplementación de la madre en la preñez puede duplicar el nivel de selenio de su cría al nacimiento (Del Razo, 2002).

Se ha demostrado el papel bioquímico del selenio, como un componente de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px), la cual funciona en reacciones celulares de óxido-reducción para proteger la célula del daño por oxidación provocado por los radicales libres y peróxidos (Burk, 1989).

La GSH-Px cataliza las reacciones que ayudan a destruir tanto al agua oxigenada como a los peróxidos de ácidos grasos (hidroperóxidos orgánicos) que se generan en el organismo. Los peróxidos se reducen mediante la reacción general catalizada por la GSH-Px, en la cual el glutatión reducido (GSH) actúa como donante de hidrógeno; el glutatión oxidado se reduce de nuevo, es decir, es regenerado por reacciones subsiguientes, mediante una reacción en la que participan la glutatión reductasa y un donante de hidrógeno (López *et al.*, 1997).

Es por ello que la GSH-Px dependiente del Se, desempeña un papel central en los procesos de oxido-reducción celular.

Es difícil determinar los requerimientos de minerales específicos para los ovinos, debido a la interacción entre minerales que por falta o abundancia pueden dar otras deficiencias o toxicidades, sin embargo, el requerimiento de selenio establecido a través de ecuaciones, se ha estimado entre 0.1 y 0.3 ppm dependiendo la etapa fisiológica, peso al nacimiento (PN), peso corporal (PC), coeficiente de absorción (forrajes: 0.31 y concentrado: 0.60 CA), producción de leche (PD), entre otras. Para el caso de borregas gestantes la ecuación es: 0.0025 mg/kg PN/CA (NRC, 2003).

2.4 La Vitamina E (α -tocoferol)

Las vitaminas se definen como compuestos orgánicos, necesarios en pequeñas cantidades para el crecimiento y mantenimiento de la vida animal (Mc Donald *et al.*,

1995). A pesar de ello, la deficiencia prolongada de vitaminas en la ración, determina alteraciones metabólicas y la correspondiente enfermedad carencial.

Las vitaminas cuando son suministradas con oportunidad, aumentan la eficiencia y la producción de los animales, al mismo tiempo que los previenen de enfermedades (UGRJ, 2007).

Los ovinos requieren vitaminas liposolubles (A D E y K), pero no fuentes adicionales de vitaminas hidrosolubles (complejo B y C) porque estas se sintetizan en cantidades adecuadas en el rumen (Ensminger y Olentine, 1985).

La vitamina E es un compuesto liposoluble que se encuentra en los vegetales, forrajes verdes y granos de cereal con el nombre de tocoferoles en sus formas alfa, beta, gama y delta tocoferoles y tocotrienoles (alfa, beta, gama). Esta vitamina, no se acumula en el organismo en grandes cantidades durante un periodo de tiempo apreciable, por lo que es importante el aporte continuo en la ración (Mc Donald *et al.*, 1995).

Su función biológica, consiste en el control de procesos oxidativos en conexión con la GSH-Px a nivel de la membrana celular, protegiendo las células de lesiones oxidativas (envejecimiento y destrucción de células) provocadas por los RL (Mc Donald *et al.*, 1995). Inhibe la formación de fosfolípidos anormales (que en la superficie celular dificultarían los mecanismos normales de intercambio de energía), tiene una función protectora contra muchos agentes miopáticos, participa en la respiración celular actuando en la cadena respiratoria y ejerce un efecto anti-inflamatorio sobre las membranas celulares, entre otros. (Boggero y Castro, 2003).

La vitamina E, también es importante en la formación de glóbulos rojos (así como la prolongación de su vida media), ayuda al organismo a utilizar de manera óptima la vitamina K y A, evita trastornos oculares y es esencial en el mantenimiento de la integridad y estabilidad de la membrana axonal (membrana de las neuronas).

Participa de forma significativa en el desarrollo y actividad del sistema inmune (Mc Donald *et al.*, 1995). Licata (2007) indica que la vitamina E es esencial en la reproducción normal en los animales, para prevenir abortos e infertilidad.

Las necesidades de vitamina E en un animal dependen de los niveles dietéticos de ácidos grasos poliinsaturados y de los niveles de selenio, sin embargo, los requerimientos dietarios para las ovejas, no están claramente definidos. El NRC (1985) recomienda de 10 a 70 UI de vitamina E kg^{-1} de dieta (una UI es igual a un mg de acetato de tocoferol). Sin embargo, existen autores que recomiendan suplementar de 6 a 20 veces más de lo recomendado por el NRC (Mendoza, 2008).

La manifestación más importante de la deficiencia en vitamina E en los animales, es la degeneración muscular (miopatía), relacionada con la baja ingestión de vitamina E y selenio. Sin embargo, existen otros síntomas como anemia hemolítica (destrucción de glóbulos rojos), alteraciones oculares, dificultad para mantener el equilibrio y respuesta inmune disminuida, entre otros (Mc Donald *et al.*, 1995; Licata, 2007).

El ácido propiónico, los ácidos grasos no saturados, el calor, la humedad, y algunos minerales como el Cu y Fe destruyen esta vitamina.

2.5 Sinergia: selenio-vitamina E

Existe una asociación entre la vitamina E y el selenio, dado que ambos elementos forman parte de un mismo sistema antioxidante, de tal manera que uno puede alterar los requerimientos del otro pero no reemplazarlos completamente; se ha visto que el selenio y la vitamina E son elementos que deben estar siempre suplementados en forma conjunta sin que haya dependencia entre uno y otro (Boggero y Castro, 2003). Existen estudios en relación a la suplementación de vitamina E (680 UI día^{-1}) y Se (50 mg día^{-1}) en borregas gestantes vía intramuscular tres semanas antes del parto, donde se tiene un efecto al disminuir la incidencia de retención placentaria (Mendoza, 2008).

Los valores bajos de Se sanguíneo y vitamina E en ovejas gestantes, constituyen uno de los factores predisponentes de la miodegeneración nutricional congénita, ya que afecta directamente la concentración de selenio y vitamina E en los diversos tejidos del feto (Gutierrez *et al.*, 2005).

Las necesidades de vitamina E en las dietas de los corderos lactantes están relacionadas con los niveles de selenio que consumen de la leche de sus madres. El selenio tiene un efecto economizador sobre los requerimientos de la vitamina E; cuando los niveles de selenio en la dieta son elevados, los requerimientos de la vitamina E son menores y viceversa (Ensminger y Olentine, 1985).

2.6 El selenio y la vitamina E en la respuesta inmune de los corderos

En numerosas especies estudiadas, las deficiencias de selenio y vitamina E resultan en una reducción de la función inmune del organismo (López *et al.*, 1997).

Las células del sistema inmune y fagocítico, que proliferan rápidamente tras una estimulación, son particularmente susceptibles a lesiones causadas por radicales libres, peróxidos y superóxidos (Weber, 1995).

La acción de los antioxidantes, ejerce una respuesta sobre el sistema inmune, donde los neutrófilos producen gran cantidad de especies activas de oxígeno (radicales libres) siendo estos compuestos necesarios para su función anti-microbiana (López *et al.*, 1997).

La defensa inmunitaria se basa en la actividad de los linfocitos B y T; los linfocitos T (inmunidad celular) tienen múltiples funciones, tales como la producción de linfoquinas y activación o supresión de los linfocitos B. Los linfocitos B (inmunidad humoral), cuando responden con un antígeno se diferencian en células de memoria o células plasmáticas productoras de anticuerpos.

En la respuesta primaria, los anticuerpos son principalmente inmunoglobulinas (Ig) M, que van cambiando a IgG. En la respuesta secundaria, la mayor parte de anticuerpos producidos son IgG. La respuesta inmunitaria ocurre cuando un antígeno (virus, bacteria) invade los tejidos del huésped. La sustancia extraña es inactivada o destruida por medio de una compleja interacción entre macrófagos y linfocitos (Weber, 1995).

López *et al.* (1997), mencionan que los linfocitos son especialmente susceptibles al daño peroxidativo originado por radicales libres, debido a que sus membranas tienen un contenido relativamente alto de ácidos grasos libres. El hecho de que estas membranas celulares estén implicadas en el transporte de sustancias solubles, hace que el flujo normal de señales inductivas en el epitelio celular no ocurra, viéndose alterado el desarrollo de la inmunidad mediada por estas células.

La vitamina E tiene escasa o nula capacidad de atravesar la barrera placentaria, por lo cual sufre una disminución importante en los tejidos fetales al aumentar la edad del feto, los animales nacen con muy pocas reservas de esta vitamina (Boggero y Castro, 2003).

Tanto la vitamina E como el selenio son importantes en el mejoramiento de la integridad celular, e importantes medios para proporcionar inmunidad innata al animal. La vitamina E es incorporada a la matriz lipoproteica de la pared celular protegiendo así contra el daño oxidativo, mientras que el selenio en la forma de GSH-Px, actúa desde el citoplasma, protegiendo el medio ambiente celular de daños oxidativos en los procesos metabólicos.

En general, el papel central de la vitamina E y selenio en la respuesta inmune es la prevención de la peroxidación de los lípidos en las membranas celulares (Weber, 1995). Por ello la importancia de ofrecerlos al animal como un complemento de la dieta.

III. OBJETIVOS

- Investigar los efectos de la suplementación con selenio y vitamina E, sobre la respuesta productiva de borregas gestantes.
- Evaluar la actividad de la glutatión peroxidasa (GSH-Px) en suero de borregas gestantes y al momento del parto.
- Identificar y cuantificar Gammaglobulinas en suero de borregas gestantes y al momento del parto.
- Determinar el peso de las crías al nacimiento al suplementar la dieta de las borregas con selenio y vitamina E.

IV. HIPÓTESIS

- El peso al nacimiento de las crías se mejora con la suplementación de selenio y vitamina E.
- Con la suplementación de selenio y vitamina E, aumenta la capacidad antioxidante de las borregas y por lo tanto la producción de inmunoglobulinas.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Localización

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Granja Experimental del Colegio de Postgraduados, ubicada en el km. 36.5 de la carretera México-Texcoco. El clima de la región es del tipo C(wo)(w)b(i)g, que corresponde a un clima templado, con una época seca en invierno, temperatura promedio anual de 15°C y una precipitación media anual de 644.8 mm (García, 1981).

5.2 Animales

Se utilizaron 22 borregas de un año de edad en el primer mes de gestación, de raza comercial (Suffolk, Dorset y cruza), con peso vivo promedio de 55 ± 10 kg.

A dichas borregas se les desparasitó con Ivermectina (400 mcg de Iverject F®, laboratorios Avilab), se inyectó 500.000 UI de vitamina A, 75,000 UI de vitamina D3 y 50 UI de vitamina E (Vigantol®, laboratorios Bayer) y vacunó con Bobac 8®, (Laboratorios Intervet) para protegerlas contra enfermedades clostridiales, principalmente.

Los animales se alojaron en un corral de 12 metros de largo y 6 metros de ancho, con comederos de cemento techados con lámina y una pila de agua a la que tuvieron acceso continuo.

5.3 Alimentación

Se proporcionó una dieta a base de forraje (70%) y grano (30%) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentajes de ingredientes en la dieta.

Ingrediente	% en la Dieta
Heno de Avena	36
Alfalfa Achicalada	34
Sorgo	27
Soya	2
Minerales*	1

* Minerales, Superbayphos[®], laboratorios Bayer. Cada 100g contienen: fósforo 10.0 %, calcio 12.0 %, hierro 0.5 %, magnesio 0.1 %, cobre 0.15 %, zinc 0.12 %, manganeso 0.055 %, cobalto 0.05 %, yodo 0.02 %, selenio 200 ppb, vitamina A 50000 U.I.

El programa utilizado para formular la dieta fue el NUTRION (2002), en base a las recomendaciones del NRC (1985), proporcionando a los animales 1.5 kg de alimento diariamente para satisfacer sus requerimientos nutricionales.

El análisis de materia seca, cenizas, proteína total y extracto etéreo en la dieta se realizó por el método de AOAC (1990), mientras que la determinación de fibra ácido detergente (FDA) y fibra neutro detergente (FND) por la técnica de Van Soest *et al.* (1991). Los resultados se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Análisis de la dieta en base seca.

COMPOSICIÓN QUÍMICA	%
Materia seca	89.53
Cenizas	7.91
Proteína total	13.27
FDN	57.79
FDA	38.11
EE	2.85

5.4 Tratamientos

Las borregas gestantes se distribuyeron al azar en cuatro tratamientos con cinco repeticiones para el tratamiento testigo y 6 repeticiones para cada uno de los demás tratamientos. No se pudo obtener un número mayor e igual de repeticiones, puesto que no todas las borregas expuestas al macho, quedaron gestantes, lo cual era requisito para este estudio.

Los tratamientos que se evaluaron fueron:

- 1) Testigo (dieta base)
- 2) Dieta base + Se (0.2 ppm kg⁻¹ de alimento día⁻¹).
- 3) Dieta base + Vit E (400 UI animal⁻¹)
- 4) Dieta base + Se (0.2 ppm kg⁻¹ de alimento día⁻¹) + vitamina E (400 UI animal⁻¹).

5.5 Suplementación

Desde el inicio de la gestación a las borregas se les proporcionó Se como 0.00045 g de selenito de sodio al 45% (concentración de Se en el compuesto) por vía oral, por animal, diluido en 2 mL de agua destilada. La vitamina E se proporcionó a razón de 0.8 g de acetato DL- α -tocoferol al 50% también por vía oral, según el tratamiento correspondiente.

La suplementación de Se y vitamina E, se ofreció por la mañana al mismo tiempo que la alimentación.

5.6 Variables evaluadas

5.6.1 Identificación y cuantificación de gammaglobulinas en suero.

La determinación de gammaglobulinas se llevó a cabo en el Laboratorio de Serología del Departamento de Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. La técnica utilizada fue electroforesis con agarosa (Garvey *et al.*, 1977) con el siguiente procedimiento:

Se preparó una solución de agarosa (Sigma-Aldrich[®]) que se colocó en un matraz Erlenmeyer. Posteriormente se colocaron 4 mL de esta solución en un porta objetos que tenía puesto un molde (peine) para formar pozos, en los cuales se colocó el suero. En cada laminilla se hicieron dos pozos y en cada uno de ellos se colocó una muestra de suero de diferentes borregas.

Se hizo una dilución de los sueros manteniendo una relación 1:10, de la cual se tomaron 15 µL de muestra que se colocaron en cada pozo previamente teñido con el marcador. Se preparó la cámara de electroforesis con buffer de glicina (Sigma-Aldrich[®]). Una vez preparada la cámara de electroforesis, se conectó a una fuente de poder (250 miliamperes y 5 volts) y se dejó que el suero se desplazara 3 cm desde el pozo, posteriormente se fijó con ácido tricloroacético, y ya fijadas las proteínas se tiñeron con colorante Ponceau.

Las laminillas se depositaron en un desecador a 35 °C por 24 horas, después se les colocó papel absorbente humedecido para acelerar la desecación y conservar el agar.

Una vez secas las laminillas, con ayuda de agua destilada, se quitó el papel absorbente y se pasaron por una solución de ácido acético glacial para quitar el excedente de colorante (solución lavadora) y se dejaron secar a 37°C. Finalmente, las laminillas se colocaron en un fotodensitómetro para determinar el porcentaje de gammaglobulinas.

5.6.2 Cuantificación de la actividad de GSH-Px

La determinación de la actividad de GSH-Px se llevó a cabo en el Laboratorio 34 del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM. Antes de proceder a la cuantificación de la enzima, se determinó la cantidad de proteína de cada muestra de suero por el método de Bradford (1976) con previa dilución de las muestra (1:100), tomando 30 μ L de esta para dicha determinación.

La actividad de GSH-Px fue cuantificada siguiendo la metodología descrita por Sarabia (2004), con algunas modificaciones en los cálculos de las concentraciones, ya que estos investigadores utilizaron reactivos con diferentes concentraciones (NADPH glutatión reducido y glutatión reductasa).

Para ello se prepararon los siguientes reactivos:

a) Buffer de fosfatos (pH 7.4) el cual contenía:

REACTIVO	CONCENTRACIÓN
Buffer de fosfato de potasio	800 mM
EDTA	4 mM
Azida de sodio	4.7 mM

b) Mezcla de reacción:

REACTIVO	CONCENTRACIÓN
NADPH*	350 μ M
Glutatión reducido*	6.2 mM
Glutatión reductasa*	0.35 U ml ⁻¹ (1.4 mg ml ⁻¹ ; 500U mg ⁻¹)
Buffer	Cbp

* Sigma-Aldrich® CO. St. Louis, MO, USA

En una celda de cuarzo se agregaron 50 μ L del buffer de fosfatos, 50 μ L de muestra (suero) y 800 μ L de mezcla de reacción. El buffer de fosfatos y la mezcla de reacción, se prepararon el mismo día y se mantuvieron a 4°C en un recipiente con hielo. La

mezcla fue preincubada durante 8 minutos a 37 °C, después se le adicionaron 100 µl de H₂O₂ (30% solución comercial). Se agitó manualmente y el consumo de NADPH fue determinado con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 340 nm. Se registró una lectura inicial 15 segundos después de haber adicionado el sustrato y la decadencia de la absorción se registró nuevamente a los 5 minutos después de iniciada la corrida. Bajo el mismo esquema, se trabajó una reacción no enzimática, donde se sustituyó la muestra por el buffer (blanco).

5.6.3 Cuantificación de Se total en sangre

La concentración de Se total en sangre, se determinó en el área de Farmacia del Campo Uno de la FES-Cuautitlán, UNAM. La técnica utilizada fue con base a lo reportado por Jurišić *et al.* (2003). Las muestras de sangre se descongelaron a temperatura ambiente y una vez descongeladas se depositaron en vasos para horno de microondas (Mars 5), 0.5 mL de muestra ± 0.05 mL. A la sangre colocada en el vaso, se le adicionó 5 mL de agua desionizada, 2.5 de ácido nítrico y 1 mL de peróxido de hidrogeno al 30%, en una campana de extracción (Labconco®) para evitar la salida de gases.

Se dejó reposar la muestra con la solución durante 20 minutos, en los vasos tapados, posteriormente se les colocó las camisa y se les acomodó en las chaquetas para finalmente montarlos en el carrusel (HP500 plus) cerrado a presión para ser introducido al horno de microondas.

Una vez en el horno de microondas, la temperatura se elevó a 140 °C en cuatro minutos y se mantuvo por dos minutos más, después se elevó a 180 °C y se mantuvo por ocho minutos. Posteriormente se mantuvieron las muestras a 200 °C por cuatro minutos para finalmente enfriarse por cinco minutos.

Concluido este proceso de digestión, se sacó el carrusel y se dejó enfriar en la campana extractora. Se destaparon los vasos y su contenido fue transferido a

matraces de 25 ml para aforarlos con ácido clorhídrico 7 molar (HCl 7M). El contenido de estos matraces se colocó en envases de plástico con su respectiva tapa, para posteriormente leerse en espectrofotómetro de absorción atómica con el generador de hidruros.

5.6.4 Peso de los corderos al nacimiento

Se registraron los pesos de los corderos al momento del parto, con la ayuda de una balanza mecánica, graduada en gramos y kilogramos.

5.7 Toma de Muestras

Las muestras de sangre para la determinación de gammaglobulinas y GSH-Px se colectaron por punción en la vena yugular obteniendo 5 ml de sangre por animal. La sangre se centrifugó en una Centrifuga IECC-8R a 3500 revoluciones por minuto (rpm), durante 25 minutos para la obtención de suero, el cual fue congelado a -20°C, para su posterior determinación.

Para la determinación de Se, se obtuvieron muestras de sangre por punción de la vena yugular (5 mL) en cada uno de los animales, con agujas y tubos Vacutainer con heparina como anticoagulante y también se congeló a - 20°, para su análisis posterior.

Las muestras de sangre extraídas durante todo el periodo de gestación, se tomaron en las siguientes etapas:

- En el tercer mes de gestación.
- Al momento del parto

5.8 Análisis Estadístico

La información de las variables relacionadas con la suplementación de selenio y vitamina E en borregas en dos etapas fisiológicas: gestantes y paridas, fueron analizados como un diseño completamente al azar, donde los tratamientos consistieron: T1: Testigo, T2: Suplemento de selenio, T3: Suplemento vitamina E y T4: Selenio + Vitamina E, los cuales fueron suministrados en dos etapas fisiológicas: gestantes y paridas, para lo cual se utilizó el procedimiento MIXED de SAS (SAS, 1998). El modelo para el análisis incluyó los efectos principales de tratamiento, tiempo y la interacción tratamiento x tiempo. Los datos fueron expresados como medias de mínimos cuadrados \pm EEM. El modelo fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + R_{j(i)} + D_k + (tD)_{ik} + \epsilon_{ijk}$$

Donde: Y_{ij} =variable respuesta (NADPH, Gammaglobulinas, Selenio), μ =media general, t_i =efecto del i-esimo tratamiento, $R_{j(i)}$ =efecto del j-esimo animal dentro del i-esimo tratamiento, D_k =efecto de la k-esima etapa fisiológica, $(tD)_{ik}$ =interacción tratamiento x etapa, ϵ_{ijk} = Error experimental. Las medias de cuadrados mínimos fueron comparadas mediante la prueba de Tukey ajustada, usando el PROC MIXED de SAS (SAS, 1998).

Además se midió el peso de los corderos de las madres que recibieron los diferentes tratamientos, al nacimiento. La información se analizó como un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y cinco repeticiones por tratamiento. Las medias se compararon mediante la prueba de Tukey. Los análisis estadísticos se analizaron usando el procedimiento GLM de SAS (SAS, 1998).

Para evaluar el cambio en las variables respuesta (NADPH, Gammaglobulinas y Selenio) entre la etapa de gestación y parto, se utilizó un análisis de varianza multivariado.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 Cuantificación de gammaglobulinas

No se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$), en la concentración de gammaglobulinas en las borregas gestantes ni al momento del parto, lo que significa que no hubo efecto debido a la suplementación de vitamina E y selenio (Cuadro 3), debido probablemente al número de animales utilizados por tratamiento y al efecto mismo de las borregas, ya que el manejo de los animales fue el mismo en toda la investigación a manera que el estrés fuera mínimo, además la alimentación fue la misma en todo el experimento.

Cuadro 3. Concentración de gammaglobulinas (g dL^{-1}) en borregas gestantes y al momento del parto.

	ESTADO FISIOLÓGICO	TRATAMIENTO				EEM	P > F
		TESTIGO	SELENIO	VITAMINA E	Se + Vit E		
Ig G (g/dl)	GESTANTES	18.27	18.52	20.77	20.16	2.38	0.58
	PARIDAS	25.55	23.82	21.66	25.55		

Los resultados obtenidos en este trabajo son diferentes a los reportados por Mendoza (2008), que al suplementar borregas gestantes con vitamina E (400 UI) y selenio (selenito de sodio; 0.2 ppm), la cantidad de gammaglobulinas se incrementó significativamente ($4.4 \pm 0.22 \text{ g dl}^{-1}$; $P<0.05$),

Daniels *et al.* (2000), al estudiar un grupo de ovejas con el virus de parainfluenza tipo 3 (PI3) obtuvieron títulos más elevados de IgG's en aquellas hembras que fueron suplementadas con 400 UI vitamina E día^{-1} , en comparación con las no suplementadas, además de que se mejoró la integridad celular e inmunidad de los corderos al nacimiento.

Leyan (2004), estudió en un grupo de vacas gestantes una dieta seleno-deficiente y en otro grupo de vacas gestantes suplementadas con selenato de bario, sobre la

concentración de IgG's, no observando diferencias ($P>0.05$) entre vacas suplementadas y no suplementadas.

De acuerdo al análisis de varianza multivariado (Cuadro 4), no se observa diferencia ($P>0.05$) entre tratamientos.

Cuadro 4. Resultados estadísticos de MANOVA Wilks Lamda para gammaglobulinas (g dL^{-1}).

Factor	Valor estadístico	F. aprox.	P. value
EDO. FISILOGICO	0.7024	7.20	0.015
EDO. FISIOL*TRATAMIENTO	0.8938	0.67	0.508

Existe diferencia ($P<0.05$) entre las hembras en estado de gestación y al momento del parto, sin embargo, esta diferencia esta dada por la etapa fisiológica en que se muestrearon las borregas, no así por efecto del tratamiento.

Se observó que las hembras al momento del parto generaron mayor cantidad de gammaglobulinas, en comparación con el periodo en el que estuvieron gestantes. Sin embargo, esta tendencia no se fue tan marcada en las borregas suplementadas con vitamina E (Figura 1).

Contrario a esto, Ritacco *et al.* (1986), al suplementar corderos con α -tocoferol en niveles de 33 (testigo) a 476 mg kg^{-1} de alimento observaron una repuesta no lineal de anticuerpos en suero contra hemocianina inyectada por vía subcutánea, donde se observó que la dosis más alta de vitamina E mejoró la respuesta frente al grupo testigo, lo cual coincide con lo reportado por Hatfiel *et al.* (2002), quienes señalan que al suplementar animales domésticos con vitamina E, se incrementa la cantidad de IgG's.

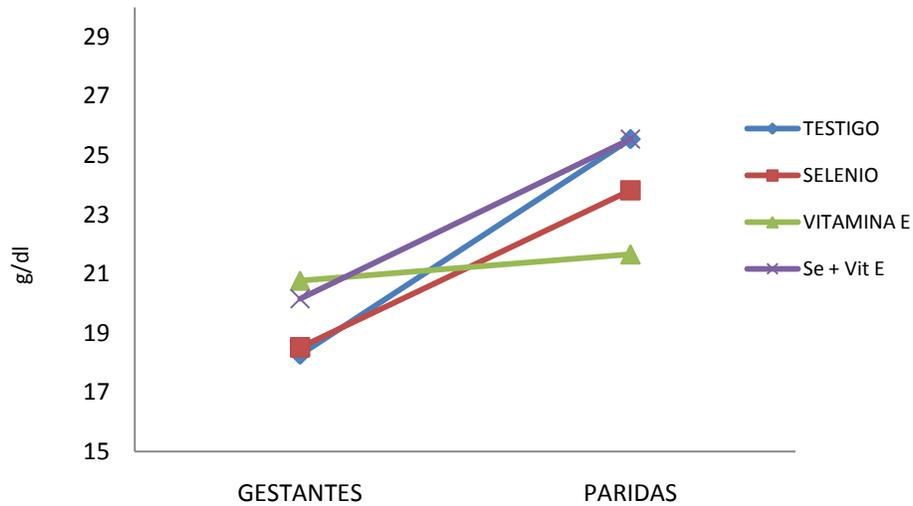


Figura 1. Concentración de gammaglobulinas (g dL⁻¹)

La nutrición juega un papel importante en el desarrollo y función del sistema inmunitario de los animales. Hay nutrientes esenciales, como la vitamina E y el selenio que por su relación con la función inmunológica, pueden afectar no sólo las respuestas de tipo humoral, sino también a distintos factores humorales inespecíficos como lisozimas y hormonas que regulan la respuesta inmune (Weber, 1995).

Por otra parte, se ha demostrado que la respuesta inmune celular como la humoral, están incrementadas en animales que reciben suplementos de selenio (Morgante *et al.*, 1996; citado por López *et al.*, 1997). Domínguez (2002), evaluó la influencia del selenio y cromo orgánicos de ovinos en engorda intensiva, observando una mejora en el crecimiento, la eficiencia productiva, el balance de nitrógeno, la digestibilidad de la materia seca y la proteína, así como las concentraciones séricas de inmunoglobulina G, las cuales se vieron aumentadas al suplementar selenio y cromo orgánicos.

La actividad de antioxidantes como la glutatión peroxidasa, se incrementa en animales con valores de selenio y vitamina E adecuados, ayudando a que la respuesta a procesos infecciosos se haga presente de manera rápida y eficaz (Stabel *et al.*, 1989).

El aumento de IgG en las borregas evaluadas en este estudio, al momento del parto no fue significativo estadísticamente, debido probablemente al efecto animal, incluyendo su capacidad de absorción de nutrientes y su respuesta al clima y al estrés, puesto que el manejo de las muestras de suero y el análisis en el laboratorio fue el mismo. Sin embargo, el aumento observado de IgG es deseable, puesto que la actividad de los macrófagos, neutrófilos y principalmente linfocitos encargados del desarrollo de la inmunidad, es susceptible al daño peroxidativo de los radicales libres.

Algunos otros estudios realizados empleando antioxidantes (vitamina E y selenio), han reportado efectos positivos al disminuir la incidencia de enfermedades, mejorando la respuesta del sistema inmunológico (Huerta *et al.*, 2005).

6.2 Medición de la actividad de la GSH-Px

No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre tratamientos, observando una mejor respuesta de la concentración de NADPH (nmoles de NADPH oxidados mg^{-1} de proteína min^{-1}) en las borregas suplementadas selenio más vitamina E al momento del parto (Cuadro 5), lo cual nos indica que la suplementación de Se y vitamina E en borregas gestantes, sí tuvo un impacto en la respuesta antioxidante al estar disponible la vitamina E y el selenito de sodio, en diferentes tejidos del organismo del animal.

La actividad de la GSH-Px medida a través del NADPH fue diferente en cada uno de los tratamientos, observando que todas las hembras suplementadas y las no suplementadas mostraron un aumento en los valores de NADPH al momento del parto, debido posiblemente al estrés que esto implica, considerando que la absorción de vitamina E y selenio es diferente en cada borrega como organismo individual, incluyendo factores externos tales como la excreción de selenio en orina, heces, órganos viscerales, saliva, pulmones, eructo, entre otros.

Cuadro 5. Concentración de NADPH (nmoles de NADPH oxidados mg^{-1} de proteína min^{-1})

	ESTADO FISIOLÓGICO	TRATAMIENTO				EEM	P > F
		TESTIGO	SELENIO	VITAMINA E	Se + Vit E		
NADPH (nmoles)	GESTANTES	548.1	456.9	399.3	284.87	138.44	0.61
	PARIDAS	668.0	515.3	499.3	679.56		

Los resultados de este trabajo no coinciden con los obtenidos por Whanger *et al.* (1977), quienes reportan un aumento ($P < 0.05$) de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa en sangre, en ovejas suplementadas con vitamina E y selenio, respecto a las que no los recibieron y con Mendoza (2008) quien trabajó con borregas gestantes y observó una mayor actividad de la glutatión peroxidasa ($P < 0.05$) en aquellas hembras que fueron suplementadas con vitamina E y selenito de sodio.

Según Guyot *et al.* (2007), la actividad enzimática de la glutatión peroxidasa en plasma se incrementó ($P < 0.05$) al suplementar 5 ppm de selenito de sodio vía oral, sin embargo, los valores más altos se presentaron cuando se proporcionó el selenio en forma orgánica.

Un estudio realizado por Buchanan-Smith *et al.* (1969), suplementando borregas gestantes con vitamina E (700 UI) y selenio (5 mg selenato de sodio) reportó la muerte por distrofia muscular de las crías de hembras que no fueron suplementadas.

Ramírez *et al.* (2004), suplementaron corderos seleno-deficientes de 3 a 7 días de edad con selenito de sodio, observando un incremento de la concentración de glutatión peroxidasa a niveles normales, dos semanas después del tratamiento, reduciendo considerablemente las muertes repentinas o signos clínicos de enfermedad.

De acuerdo al análisis de varianza multivariado (Cuadro 6), no se observa diferencia ($P > 0.05$) entre tratamientos.

Cuadro 6. Resultados estadísticos de MANOVA Wilks Lamda para NADPH (nmoles de NADPH oxidados mg^{-1} de proteína min^{-1})

Factor	Valor estadístico	F. aprox.	P. value
EDO. FISILOGICO	0.8464	3.08	0.097
EDO. FISIOL*TRATAMIENTO	0.9020	0.62	0.614

Existe una diferencia numérica entre las hembras en estado de gestación comparadas en el momento del parto, pero esta diferencia esta dada por la etapa fisiológica en que se muestrearon las borregas, no así por efecto del tratamiento.

Las concentraciones de NADPH (nmoles de NADPH oxidados mg^{-1} de proteína min^{-1}) obtenidas en cada uno de los tratamientos de este estudio, muestran un aumento de forma lineal de la actividad de la glutatión peroxidasa en todas las hembras al momento del parto (Figura 2), lo cual e favorable por las características de los antioxidantes.

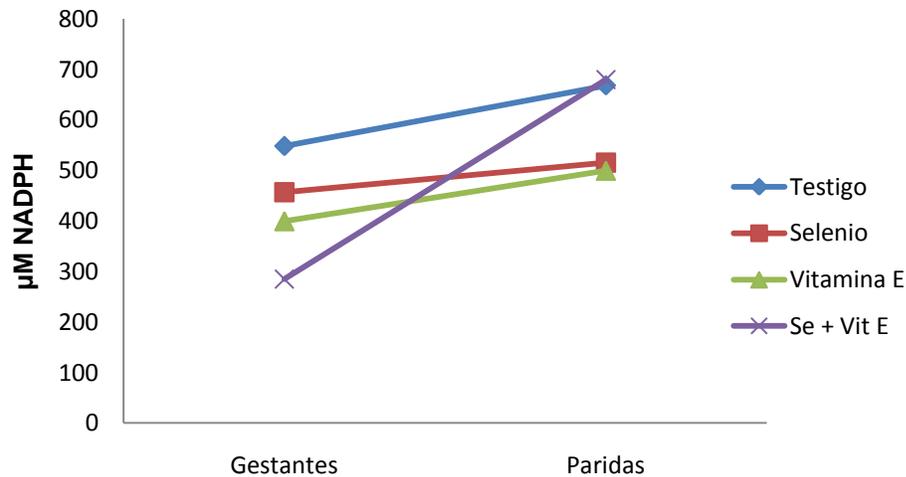


Figura 2. Concentración de NADPH (nmoles de NADPH oxidados mg^{-1} de proteína min^{-1})

Cisneros *et al.* (1997), mencionan que la actividad de la GSH-Px en sangre y plasma de la hembras gestantes, empieza a disminuir a mitad de la gestación, por lo que es significativamente más baja al momento del parto ($P < 0.001$). Sin embargo los efectos protectores de la GSH-Px frente a daños oxidativos también se ponen de manifiesto

en animales sometidos a situaciones estresantes (García *et al.*, 1992). Stowe y Herdt (1992), mencionan que la actividad de la enzima GSH-Px es sin duda un buen indicador del estatus de selenio en rumiantes.

La glutatión peroxidasa, es una enzima de gran importancia para las células, debido a su participación en la eliminación de especies reactivas del oxígeno y su estudio puede ser utilizado para el análisis de diversas enfermedades, como la enfermedad del músculo blanco en corderos (Cisneros *et al.*, 1997).

6.3 Cuantificación de Selenio total en sangre

No hubo diferencias ($P > 0.05$) en los valores de la concentración de selenio (ppb) en sangre de las borregas en los diferentes tratamientos (Cuadro 7). Sin embargo, se observaron valores más altos de selenio en sangre en todas las borregas al momento del parto, pudiendo deberse al estado fisiológico de éstas, lo que pudo ser benéfico en el momento del parto, considerando que el selenio es un elemento esencial para los animales, requerido para varias funciones del organismo, tales como su función reguladora en los procesos oxidativos celulares y su participación en la respuesta del sistema inmune (Ramírez *et al.*, 2004; López *et al.*, 1997).

Cuadro 7. Valores promedio de la concentración de Selenio (ppb) en sangre.

	ESTADO FISIOLÓGICO	TRATAMIENTO				EEM	P > F
		TESTIGO	SELENIO	VITAMINA E	Se + Vit E		
Se (ppb)	GESTANTES	77.72	48.98	116.41	98.65	28.85	0.83
	PARIDAS	152.38	117.63	123.65	100.66		

Estos resultados difieren de los reportados por Gutiérrez *et al.* (2005), quienes observaron diferencias ($P < 0.0001$) en el contenido promedio de selenio en sangre de corderos suplementados con bolos de selenio (5 y 10% Se) en comparación con el grupo testigo (0% Se). Por otro lado, Ramírez *et al.* (2004), indicaron que la administración parenteral de selenio en corderos recién nacidos, incrementó ($P < 0.01$)

la concentración de selenio en plasma con dosis menores a 0.45 mg de Se kg⁻¹, sin llegar a la intoxicación.

Sin embargo, Rowntree *et al.* (2004), al suplementar vacas lecheras con vitamina E (680 UI) y selenio (1mg) no encontraron diferencias en las concentraciones de selenio en el calostro, ni en la actividad de la GSH-Px en suero.

De acuerdo al análisis de varianza multivariado (Cuadro 8), no se observa diferencia (P>0.05) entre tratamientos.

Cuadro 8. Resultados estadísticos de MANOVA Wilks Lamda para Selenio (ppb).

Factor	Valor estadístico	F. aprox.	P. value
EDO. FISILOGICO	0.8052	4.11	0.058
EDO. FISIOL*TRATAMIENTO	0.9649	0.21	0.891

Este cuadro nos muestra que el selenio puede llegar a ser significativo (P<0.05) entre las hembras en estado de gestación y al momento del parto, sin embargo, esta diferencia podría estar dada por la etapa fisiológica en que se muestrearon las borregas, no así por efecto del tratamiento.

La figura 3, muestra una tendencia a aumentar en forma lineal los valores de selenio sanguíneo durante el parto, comparado con los valores de las hembras gestantes, aunque la tendencia es menos marcada durante el parto, en los tratamientos con vitamina E y vitamina E más selenio.

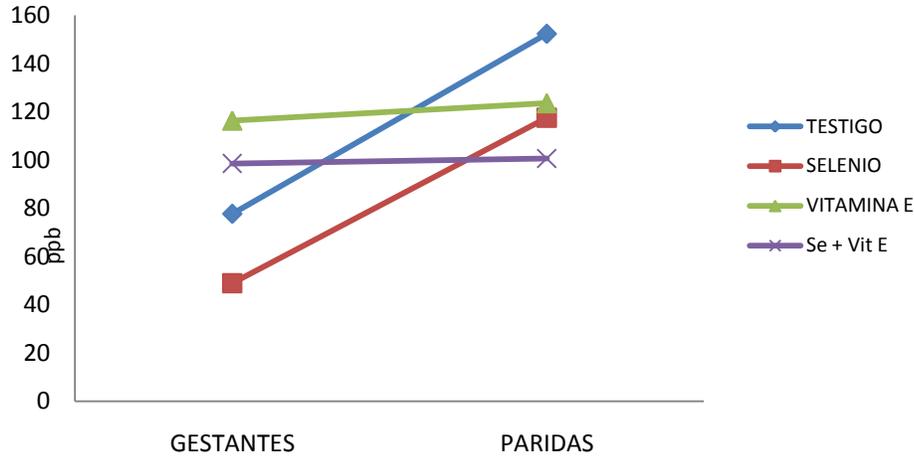


Figura 3. Cuantificación de Selenio total en sangre (ppb)

Davis *et al.* (2006), al suplementar borregas gestantes con selenito de sodio durante 72 semanas, proporcionando una dieta a base de maíz y soya, observaron que el selenio en suero obtenido cada 12 semanas durante todo el estudio, aumentó linealmente ($P < 0.001$) a través del tiempo y no se vio afectada la respuesta biológica de los animales. En un experimento realizado para determinar la biodisponibilidad relativa de fuentes inorgánicas de selenio, con altos niveles de inclusión, tomando como base al selenito de sodio, Henry *et al.* (1988), concluyeron que la mejor fuente para suplementar selenio es el selenato de sodio (133%), seguido del selenito de calcio (101%) y selenito de sodio (100%).

La diferencia observada entre lo encontrado por Davis *et al.* (2006) y los resultados del presente estudio puede deberse a factores que Stowe y Herdt (1992) mencionan, como la dificultad que existe para asegurar un almacenamiento apropiado de la muestra de sangre, es decir, las variaciones pueden estar asociadas con el tipo de anticoagulante utilizado, o bien, con una respuesta retrasada a la suplementación y también que las concentraciones de la enzima alcanzan un máximo aún cuando los niveles de selenio en suero continúan aumentando. Sin embargo, también pueden ser debidos a la poca disponibilidad del selenito de sodio en el organismo por la conversión a selenio insoluble, que no puede ser utilizado ni por el animal, ni por los microorganismos. También existe la posibilidad de que gran parte

del selenio suplementado en forma de selenito sea excretado vía orina, heces, órganos viscerales, saliva, pulmones, eructo, entre otros.

6.4 Peso de los corderos al nacimiento

El Cuadro 9, muestra los resultados obtenidos del peso de los corderos al nacimiento, donde se observa que no hubo diferencias ($P > 0.05$) entre tratamientos, debido probablemente a que el manejo en la alimentación de las hembras durante toda la gestación fue el mismo, además de que la dieta ofrecida a todas las borregas gestantes, aún aquellas que no fueron suplementadas, contenía vitamina E y selenio en cierto grado, puesto que los ingredientes que contenía la dieta llevan un porcentaje de minerales y vitaminas incluidos.

Cuadro 9. Peso promedio en gramos de los corderos al nacimiento

	TRATAMIENTO				EEM	P > F
	TESTIGO	SELENIO	VITAMINA E	Se + Vit E		
Peso Crías (g)	3328	3093.6	3020	2702	200	1.24

El selenio atraviesa fácilmente la barrera placentaria, especialmente bajo la forma de selenoaminoácidos (Jacobson y Oksanen, 1966 citado por Silva *et al.*, 2000) siendo distribuidos en los diferentes tejidos del feto, principalmente el hígado.

Los animales recién nacidos deben tomar el calostro en las primeras horas de vida para que la inmunidad pasiva se desarrolle y para prevenir posibles enfermedades (Saéz, 2002). La cantidad de selenio eliminada vía caseína (leche) es menor con el selenito de sodio comparado con el selenometioninato (Jacobson y Oksanen, 1965 citado por Silva *et al.*, 2000).

El estatus de selenio de la madre afecta la concentración de este mineral en el calostro y el estatus de selenio en el cordero en el periodo post-natal (McDowell *et al.* 1990).

No hubo efecto ($P>0.05$) en el peso de los corderos debido a la suplementación de vitamina E y selenio, mostrando un comportamiento similar en los distintos tratamientos (Figura 4). Sin embargo, se observó que las borregas del tratamiento testigo, proporcionaron crías más pesadas comparadas con las de hembras suplementadas, probablemente a que estas aprovecharon mejor los nutrientes de la dieta y principalmente porque no estuvieron expuestas al estrés de ser suplementadas todos los días, por lo cual presentaron mayor peso al nacimiento.

Cabe señalar que no se presentaron problemas al momento del parto (distocias, prolapsos y mortalidad) en ninguno de los animales asignados a los tratamientos estudiados en esta investigación.

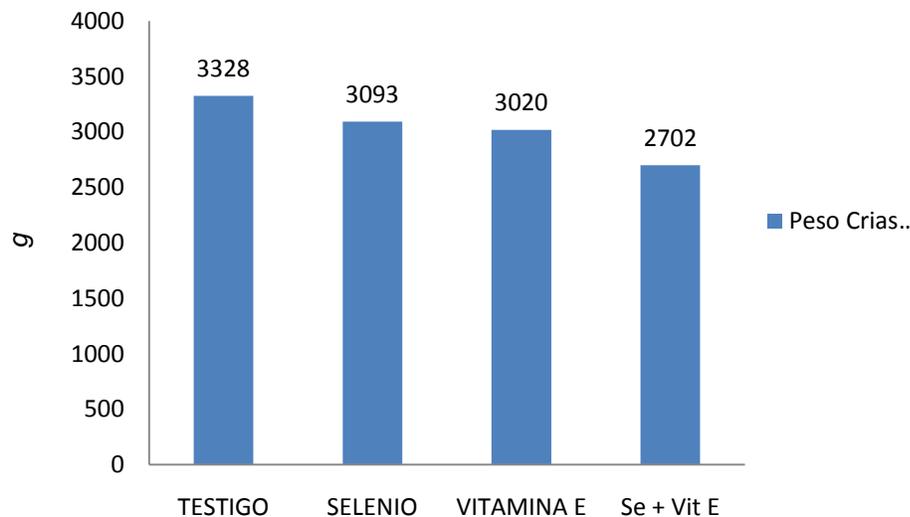


Figura 4. Peso promedio de los corderos al nacimiento (g)

En otros trabajos se ha observado que la respuesta a la suplementación de borregas gestantes se manifiesta en mayor crecimiento de los corderos. Los animales deficientes incrementan su ganancia de peso en alrededor de 35 g día^{-1} cuando son

suplementados (Stowe y Herdt, 1992). Los corderos que nacen con peso al nacimiento menor a 2 kg presentan alrededor de un 30% de posibilidad de perecer y si sobreviven, sus pesos corporales e incrementos diarios de peso van a ser inferiores a los corderos que sobrepasan los 2 kg de peso vivo al nacimiento (Quintero *et al.*, 1997).

Saéz (2002), menciona que al suplementar ovejas en el último tercio de gestación se mejora el peso al nacimiento de los corderos y se alcanza una mayor producción de calostro aumentando el porcentaje de sobrevivencia. Stowe y Herdt (1992) consideran que el nivel crítico de selenio en sangre para la sobrevivencia de los fetos es $< 11.8 \text{ ng mL}^{-1}$.

Los resultados obtenidos en este trabajo, indican que mientras las borregas gestantes estén bien alimentadas y cuenten con un buen manejo, las crías nacen con pesos adecuados.

VII. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se llevó a cabo esta investigación, no se encontraron diferencias entre tratamientos para las variables estudiadas (cuantificación de gammaglobulinas y actividad enzimática de GSH-Px en suero, ni en concentración de selenio en sangre y pesos de las crías).

El manejo de la alimentación y la suplementación en las borregas gestantes, fue el mismo durante todo el estudio, la hora de la toma de muestras, también se hizo en un horario donde no se estresara mucho el animal y las pruebas de laboratorio siguieron el mismo patrón para todas las muestras, por lo tanto, el contraste de los resultados obtenidos en las variables evaluadas, fue sin duda por efecto propio del animal, incluyendo su capacidad de absorción de nutrientes y su respuesta al clima (frio, lluvia) y al estrés.

Cabe señalar que no se presentaron problemas al momento del parto (distocias, prolapsos y mortalidad) en ninguno de los animales asignados a los tratamientos estudiados en esta investigación.

VIII. RECOMENDACIONES

Debido a que la deficiencia de selenio es un problema importante para la producción ovina del centro del país, se recomienda considerar y detectar los principales problemas que se tienen en una explotación para poder solucionarlos de la mejor manera, ya que un diagnóstico acertado y temprano nos podrá dar una mejor idea de las medidas que debemos tomar.

Para efecto de investigaciones posteriores, se recomienda utilizar un mayor número de animales para evaluar los efectos de la suplementación de vitamina E y selenio y hacer un mayor número de muestreos, además de probar diferentes niveles de selenio y vitamina E en diferentes etapas fisiológicas de los animales. También es importante probar otras formas de proporcionar selenio, tales como el selenio orgánico en sus diferentes formas.

IX. LITERATURA CITADA

- Anderson P. H., Beret S. y Patterson D. S. P. 1979. The biological selenium status of livestock in Britain as indicated by sheep erythrocyte glutathione peroxidase activity. *Vet. Rec.*, 104:235-238.
- AOAC, 1990. Oficial methods of análisis. The Association of Official Analytical Chemists. 15th. Ed. Washington , DC.
- Bendich, A. 1990. Antioxidant vitamins and their function in immune response. En Bendich A, Phillips M, Tengerdy RB (Eds.) Antioxidants nutrients and immune functions-introduction. Plenum. New York. EEUU. pp. 1-11.
- Buchanan-Smith, J.G., E.C.Nelson y A.D. Tillman. 1969. Effect of vitamin E and selenium deficiencies on Lysosomal and Cytoplasmic enzymes in sheep tissues. *J. Nutr.* 99:387-394
- Boggero C. y Castro R. 2003. Carencia de Selenio (Se) y vitamina E. en: www.zoovet.com.ar/monografias/UNL-TP2.pdf; 25/06/08. Universidad Nacional del Litoral. Facultad de Ciencias Veterinarias. 25p.
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram of protein. *J. Biol. Chem.* 72:248-260.
- Burk, R. F. 1989. Recent development in trace elements metabolism and function: newer roles of selenium in nutrition. *J. Nutr.* 119:1051-1054.
- Ceballos A., Correa H., Loaiza J. y Villa N. 2003. Actividad sanguínea de la glutatión peroxidasa como indicador del balance metabólico nutricional de selenio en rebaños lecheros de Colombia. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 16:19-25
- Ceballos A. y Wittwer F. 1996. Metabolismo del selenio en rumiantes. *Arch. Med. Vet.* 28:5-18.
- Ceballos A., Wittwer F., Contreras P. y Bohmwald H. 1998. Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa en rebaños lecheros a pastoreo: variación según edad y época del año. *Arch. Med. Vet.* 29: 13-22

- Céspedes C. T. y Sánchez S. D. 2000. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Rev. Cub. Cardiol.* 14(1):55-60.
- Chihuailaf R., Contreras P. y Wittwer F. 2002. Pathogenesis of oxidative stress: Consequences and evaluation in animal health. *Vet. Méx.* 33(3):265-283.
- Cisneros P., Pupo B. y Céspedes M. 1997. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III. Glutación peroxidasa. *Rev. Cub. Invest. Biomed.* 16(1):10-15.
- Daniels J. T. 2000. Evaluation of ewe and lamb immune response when ewes were supplemented with vitamin E. *J. Anim Sci* 78:2731-2736.
- Davis P. A., McDowell L. R., Wilkinson N. S. y Buergelt C. D. 2006. Tolerance of inorganic selenium by range-type ewes during gestation and lactation 1, 2, 3. *J. Anim. Sci.* 84(3):660-669.
- De Blas, C., González, G. y Argamenteria, A. 1987. *Nutrición y alimentación del ganado.* Ed. Mundi-Prensa, Madrid. 451 p.
- Del Razo, O. E. 2002. Características productivas y nivel de selenio y hormonas tiroideas en vacas lecheras suplementadas con bolos con selenio, bolos con selenio y yodo y bolos con yodo. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 15-27.
- Díaz, P. 1999. Los sistemas de producción ovina en el trópico: Aspectos generales de manejo. *Producción Sustentable de Ovinos Tropicales.* Veracruz, México. En: Glafiro T., H. G.; Díaz, R. P. Editores. pp 135-149.
- Domínguez V. I. A. 2002. Influencia del cromo y selenio orgánicos en el crecimiento, uso de nutrientes, estudio inmune y características de la canal de ovinos en engorda intensiva. Tesis Doctorado. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo de México. 141 p.
- Ensminger M. E. y Olentine C. G. 1985. *Alimentos y Nutrición de los animales.* Capítulo 21: Alimentación de ovinos. Ed. El Ateneo. México D. F. pp 395-424.
- García B., M. Gascon, A. Purroy, C. Aceña. 1992. Distrofia muscular nutricional por deficiencia de selenio y/o vitamina E en rumiantes. *Med. Vet.* 9:84-93

- García, E. 1981. Modificaciones el sistema de clasificación climática de Köppen para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. México, D. F. pp 253.
- Garvey, J.S., N.E. Cremer, D.H. Sussdorf. 1977. Methods in immunology: Chapter13 Electrophoresis in cellulose acetate. The Benjamin/Cummings Publishing Company. Readings Mass. pp. 97-100.
- Gutiérrez O. C., Kurt S. A., Rosiles M. R., Ducoing W. A. y Ortiz H. A. 2005. Blood and fecal selenium in sheep with the use of inorganic intraruminal boluses. *Vet. Méx.* 36(3): 313-324.
- Guyot, H., P. Spring, S. Andrieu y F. Rollin. 2007. Comparative responses to sodium selenite and organic selenium supplements in Belgian Blue cows and caves. *Livestock Sci.* 111:259-263.
- Hatfield, D. L., B. L. Robinson, D. L. Minikhiem, R. W. Kott, N. I. Roth, J. T. Daniels, C. K. Swenson. 2002. Serum α -tocopherol and immune function in yearling ewes supplemented with zinc and vitamin E. *J. Anim. Sci.* 80:1329-1334.
- Henry P. R., M. G. Echeverria, C. B. Ammerman y P. V. Rao. 1998. Estimation of the relative biological availability of inorganic selenium sources for ruminants using tissue uptake of selenium. *J. Anim. Sci.* 66:2306-2312.
- Huerta J. M., Ortega C. M. E., Cobos P. M., Herrera H. J. G., Díaz C. A., Guinzberg P. R. 2005. Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos. *Rev Interciencia* 30(12):727-734.
- Jurišić, S., V. Knežević, Z. Kalodjera, J. Grgić. 2003. Determination of selenium in teucrium species by hydride generation atomic absorption Spectrometría. *Z. Naturforsch.* 58:43-145.
- King, C. J. 2001. Effect of reproduction on the bioavailability of calcium, zinc and selenium. *J. Nutr.* 131: 13555-13585.
- Leyan M. V. 2004. Concentraciones de inmunoglobulinas séricas y calostrales de vacas seleno-deficientes y en el suero sanguíneo de sus terneros. *Arch. Med. Vet.* 36(2)155-162.
- Licata, M. 2007. Vitamina E. En: www.zonadiet.com/nutricion/vit-e.htm. 25/03/2007

- López A., Miranda M., Hernández J., Castillo C. y Benedito J. 1997. Glutathione peroxidase (GSH-Px) in ruminants associated to selenium deficiency pathologies. Arch. Med. Vet. 29(2):1-10.
- Lozano T., J. A. 2000. Bioquímica y biología molecular para ciencias de la salud. Editorial McGraw-Hill 2ª. Edición. 656 p.
- McDonald, P., R. Edwards, J. f. D. Greenhalgh. 1995. Nutrición Animal 5ª ed. Ed. Acribia pp 76-83.
- McDoweell L. R., Salih Y., Hentges J. F., Wilcox C. J. 1990. Selenium supplementation and concentrations of selenium in cattle tissues and fluids. Nutr. Res. 10:793-800.
- Mendoza A., E. A. 2008. Suplementación de selenio y vitamina E en borregas primerizas y sus efectos en variables reproductivas en periodo de anestro estacional. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco. Edo. de México. pp. 29-45.
- Nutrion Software. 2002. Manual de Operación. Nutrion 5 Basico/ Nutrion 5 PRO. México. pp 55-123.
- NRC. 1985. Nutrient Requirement of Sheep. Sixth Revised Edition. National Academy Press. Washington, D. C. 99p.
- NRC. 2003. Nutrient Requirement of Small Ruminants. National Academy Press. Washington, D. C. pp 134-137.
- Quintero, A., Boscán, J., González, A., Palomares, R. y Boissiere, J. 1997. Influencia del peso de los corderos West-African al nacimiento sobre la tasa de mortalidad y crecimiento. Arch. Latinoam. Prod. Anim. 5(Supl.1):430.432.
- Ramírez B. E., Hernández C. E., Hernández C. L. M. y Tórtora P. J. 2004. Effect of parenteral supplement with sodium selenite on lamb mortality and hematic values of selenium. Rev. Agrociencia 38:43-51.
- Ritacco, K. A., C. F. Nockels y R. P. Ellis. 1986. The influence of supplemental vitamin A and E on ovine humeral immune response. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 182:393-398.

- Romero P., A. 2008. Diseño y evaluación de nanopartículas de selenito de sodio para su uso en rumiantes. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco. Edo. de México. pp. 3-15.
- Ross, D. 1977. Oxidative killing of microorganisms by phagocytic cell, Trends Biochem. Sci. 2:61-66.
- Rowntree J. E., Hill G. M., Hawkins D. R., Link J. E., Rincker M. J. Bednar G. W. y Kreft R. A. 2004. Effect of Se on selenoprotein activity and thyroid hormone metabolism in beef and dairy cows and calves. J. Anim. Sci. 82:2995-3005.
- Saéz G., T. 2002. Patología y Manejo del Cordero Recién Nacido. En: <http://www.vet-uy.com/articulos/ovinos/050/012/ov012bas.htm> 10/06/09.
- Sánchez, C. 2001. Estrategias para la engorda de corderos en corrales. Rev. Borrego 2(9):10-11.
- Sarabia, M. M. 2004. Desarrollo de un bolo intrarruminal de liberación prolongada con selenio orgánico de levaduras para bovinos productores de leche. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Estudios Superiores. UNAM. Cuatlitlán Izcalli, Edo. de México. pp. 106-110.
- SAS. 1998. Version 8 for windows edition. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Silva, J. H., Quiroga, M. A., Auza, N. J. 2000. Selenio en el rumiante. Relaciones suelo, planta, animal. Med. Vet: 17(10):229-246.
- Spears J. W. 1996. Organic trace minerals in ruminant nutrition. Anim Feed Sci Tech. 58:151.
- Stabel J. R., Spears J. W., Brown T. T., Brake J. 1989. Selenium effects on glutathione peroxidase and the immune response of stressed calves challenged with *Pasteurella hemolytica*. J. Anim Sci 67:557-564
- Stowe, H. D., T. H. Herdt. 1992. Clinical assessment of selenium status of livestock. J. Anim Sci. 70:3928-3933
- Tedó G. y Casas J. 2005. Importancia de los aportes minerales en la dieta del ganado ovino. TEGASA, S. L. Departamento Técnico de Rumiantes. 2p.

UGRJ. Unidad Ganadera Regional de Jalisco. 2007. Boletín: El uso de las vitaminas A, D y E en la alimentación del ganado. En: <http://www.ugrj.org.mx> 14/06/08.

Van Soest, P.J., J. Robertson, B. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.

Weber, G. G. 1995. Micronutrientes e Inmunidad. II. Vitaminas. En: IX Curso de Especialización FEDNA. Barcelona España. 15p

Whanger P. D., Weswig P. H., Schmitz J. A. and Oldfield J. E. 1977. Effects of selenium and vitamin E on blood selenium levels, tissue glutathione peroxidase activities and white muscle disease in sheep fed purified or hay diets. *J. Nutr.* 107:1298-1307

X. ANEXOS

1. Datos individuales Gammaglobulinas séricas

Animal	Tratamiento	A	B	Gamma (g/dl)	Animal	Tratamiento	A	B	Gamma (g/dl)
9	1	1	1	13.2	9	1	1	2	20.2
23	1	1	1	20.8	23	1	1	2	24.1
26	1	1	1	18.3	26	1	1	2	19.0
63	1	1	1	21.10	63	1	1	2	37.9
72	1	1	1	18.10	72	1	1	2	33.9
78	1	1	1	18.13	78	1	1	2	18.2
35	2	2	1	22.33	35	2	2	2	22.7
49	2	2	1	17.40	49	2	2	2	15.7
80	2	2	1	13.67	80	2	2	2	27.7
81	2	2	1	18.30	81	2	2	2	21.7
85	2	2	1	20.90	85	2	2	2	31.3
7	3	3	1	24.9	7	3	3	2	22.7
34	3	3	1	22.90	34	3	3	2	20.1
52	3	3	1	22.50	52	3	3	2	17.6
83	3	3	1	20.87	83	3	3	2	19.2
84	3	3	1	12.70	84	3	3	2	28.7
17	4	4	1	19.2	17	4	4	2	20.8
38	4	4	1	16.13	38	4	4	2	27.5
53	4	4	1	15.90	53	4	4	2	23.4
56	4	4	1	20.63	56	4	4	2	29.1
58	4	4	1	28.93	58	4	4	2	21.4

Donde:

Testigo	A1	Gestante	B1
Se	A2	Parto	B2
VitE	A3		
Se+E	A4		

2. Datos individuales de la actividad enzimática de GSH-Px

Animal	Tratamiento	A	B	NADPH (μ moles)	Animal	Tratamiento	A	B	NADPH (μ moles)
9	1	1	1	842.43	9	1	1	2	1122.17
23	1	1	1	948.54	23	1	1	2	477.48
26	1	1	1	575.55	26	1	1	2	336.01
63	1	1	1	303.85	63	1	1	2	387.45
72	1	1	1	256.17	72	1	1	2	768.48
78	1	1	1	361.73	78	1	1	2	916.38
35	2	2	1	786.16	35	2	2	2	347.26
49	2	2	1	458.19	49	2	2	2	1152.72
80	2	2	1	299.03	80	2	2	2	183.27
81	2	2	1	358.51	81	2	2	2	519.28
85	2	2	1	382.63	85	2	2	2	374.26
7	3	3	1	202.57	7	3	3	2	525.71
34	3	3	1	700.95	34	3	3	2	45.01
52	3	3	1	374.59	52	3	3	2	908.53
83	3	3	1	458.19	83	3	3	2	244.37
84	3	3	1	260.44	84	3	3	2	773.3
17	4	4	1	352.08	17	4	4	2	84.72
38	4	4	1	152.68	38	4	4	2	937.28
53	4	4	1	372.98	53	4	4	2	927.27
56	4	4	1	220.25	56	4	4	2	593.24
58	4	4	1	326.36	58	4	4	2	855.29

Donde:

Testigo	A1	Gestante	B1
Se	A2	Parto	B2
VitE	A3		
Se+E	A4		

3. Datos individuales de Se en sangre

Animal	Tratamiento	A	B	Se (ppb)	Animal	Tratamiento	A	B	Se (ppb)
9	1	1	1	77.7	9	1	1	2	95.0
23	1	1	1	51.1	23	1	1	2	92.1
26	1	1	1	61.3	26	1	1	2	100.4
63	1	1	1	73.7	63	1	1	2	347.0
72	1	1	1	81.4	72	1	1	2	202.9
78	1	1	1	121.1	78	1	1	2	76.9
35	2	2	1	78.4	35	2	2	2	155.4
49	2	2	1	54.4	49	2	2	2	71.4
80	2	2	1	62.1	80	2	2	2	201.8
81	2	2	1	49.6	81	2	2	2	81.7
85	2	2	1	0.47	85	2	2	2	77.9
7	3	3	1	96.9	7	3	3	2	183.1
34	3	3	1	38.7	34	3	3	2	81.5
52	3	3	1	212.0	52	3	3	2	191.7
83	3	3	1	217.3	83	3	3	2	93.6
84	3	3	1	17.2	84	3	3	2	68.4
17	4	4	1	42.7	17	4	4	2	120.7
38	4	4	1	70.0	38	4	4	2	149.3
53	4	4	1	151.3	53	4	4	2	80.8
56	4	4	1	67.6	56	4	4	2	59.5
58	4	4	1	161.6	58	4	4	2	103.1

Donde:

Testigo	A1	Gestante	B1
Se	A2	Parto	B2
VitE	A3		
Se+E	A4		

4. Datos individuales de peso al nacimiento de los corderos

Animal	Tratamiento	Peso (g)
9	1	3600
23	1	1415
26	1	3020
63	1	3100
72	1	3520
78	1	2900
81	2	2400
35	2	3458
49	2	4050
80	2	2350
85	2	3210
7	3	2810
34	3	3100
52	3	1750
83	3	3070
84	3	3100
17	4	2710
38	4	2600
53	4	2280
56	4	3220
58	4	2700

Donde:

Testigo 1

Se 2

VitE 3

Se+E 4