



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
EN CIENCIAS AGRICOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERIA

**SUPLEMENTACIÓN DE SELENIO Y VITAMINA E EN
BORREGAS PRIMERIZAS Y SUS EFECTOS EN VARIABLES
REPRODUCTIVAS EN PERIODO DE ANESTRO ESTACIONAL**

EDGAR ALONSO MENDOZA ALDAY

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2008

La presente tesis, titulada: **Suplementación de selenio y vitamina E en borregas primerizas y sus efectos en variables reproductivas en periodo de anestro estacional**, realizada por el alumno: **Edgar Alonso Mendoza Alday**, 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 GENETICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

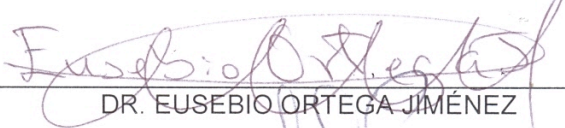
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: 
DRA. MA. ESTHER ORTEGA CERRILLA

ASESORA: 
DRA. MA. TERESA SÁNCHEZ -TORRES E.

ASESORA: 
DRA. RAQUEL GUINZBERG PERRUSQUÍA

ASESOR: 
DR. JACINTO E. RAMÍREZ BRIBIESCA

ASESOR: 
DR. EUSEBIO ORTEGA JIMÉNEZ

ASESOR: 
DR. JOSÉ ÁNGEL G. GUTIÉRREZ PABELLO

ASESOR: 
M.C. ANTONIO DÍAS CRUZ

Montecillo, Texcoco, México, abril 2008.

**SUPLEMENTACIÓN DE SELENIO Y VITAMINA E EN BORREGAS
PRIMERIZAS Y SUS EFECTOS EN VARIABLES REPRODUCTIVAS EN
PERIODO DE ANESTRO ESTACIONAL**

Edgar Alonso Mendoza Alday, M.C.

Colegio de Postgraduados

Se evaluó el efecto de la suplementación de selenio (Se) y vitamina E (vit E) en 32 ovejas primerizas de las razas Suffolk y Dorset y cruza de ambas de 35 ± 3 Kg de peso vivo (PV) y 8 meses de edad, con el propósito de mejorar la actividad reproductiva en época de anestro estacional. Se tuvieron cuatro tratamientos: 1) testigo, 2) suplementación con vit E ($400 \text{ U.I. animal}^{-1} \text{ día}^{-1}$), 3) suplementación con Se ($0.2 \text{ ppm kg}^{-1} \text{ alimento día}^{-1}$) y 4) suplementación con Se y vit E ($0.2 \text{ ppm kg alimento}^{-1} \text{ día}^{-1}$ y $400 \text{ U.I. animal}^{-1} \text{ día}^{-1}$). Las ovejas se sincronizaron con acetato de flourogestona (FGA) y gonadotropina sérica (eCG). Se tomaron muestras de sangre (5ml) para cuantificación de Se y para la obtención de suero para determinación de progesterona (P_4), gammaglobulinas y determinar la actividad enzimática de glutation peroxidasa (GSH-Px). Se realizaron cuatro muestreos, usando cuatro animales por tratamiento: antes de la suplementación con Se y vit E (muestreo 1), al inicio de la sincronización (muestreo 2), al final de la sincronización (muestreo 3) y al momento del diagnóstico de gestación (muestreo 4). Para la determinación de P_4 , la sangre se colectó catorce veces iniciando dos días antes del segundo muestreo hasta el diagnóstico de gestación. No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) en el tiempo de presentación y porcentaje de hembras que presentaron estro, porcentaje de hembras que retornaron a estro y porcentaje de hembras que quedaron gestantes. Se observó mayor producción de P_4 ($9.31 \pm 2.18 \text{ ng ml}^{-1}$; $P > 0.05$) en el tratamiento con Se y se tuvieron los niveles mas elevados de gammaglobulinas ($4.40 \pm 0.22 \text{ gr dl}^{-1}$; $P > 0.05$) y de Se (145.75 ± 8.00 ; $P < 0.05$). El tratamiento con Se y vit E presentó la mayor actividad de GSH-Px ($3.07 \pm 0.14 \text{ } \mu\text{moles de NADPH oxidados mg}^{-1} \text{ de proteína min}^{-1}$; $P > 0.05$).

Palabras claves: Se, GSH-Px, P_4 , gammaglobulinas, anestro.

SELENIUM AND VITAMIN E SUPPLEMENTATION IN FIRST SERVE EWES AND ITS EFFECT ON REPRODUCTIVE VARIABLES IN THE SEASONAL ANOESTRUS PERIOD

Edgar Alonso Mendoza Alday, M.C.

Colegio de Postgraduados

The effect of selenium (Se) and vitamin E (vit E) supplementation was evaluated in 32 first served ewes (Suffolk, Dorset and Suffolk X Dorset, 35 ± 3 kg, 8 months old) in order to improve their reproductive activity in the seasonal anoestrus period. Four treatments were evaluated: 1) control, 2) vit E supplementation (400 U.I. $\text{animal}^{-1} \text{day}^{-1}$), 3) Se supplementation (0.2 ppm kg^{-1} feed per day^{-1}), 4) Se and vit E supplementation (0.2 ppm kg^{-1} of feed per plus 400 U.I. $\text{animal}^{-1} \text{day}^{-1}$). Ewes were synchronized with fluorogestone acetate (FGA) and seric gonadotropine (eCG). Blood samples were taken (5ml) to determine Se, progesterone (P_4), gamma-globulins and the enzymatic activity of glutathione peroxidase (GSH-Px). Samples were taken from four animals of each treatment, before Se and vit E supplementation (Sampling 1), at the beginning of the synchronization (Sampling 2), at the end of the synchronization (Sampling 3), and at the moment of pregnancy diagnosis (Sampling 4). In order to determine P_4 , blood was collected fourteen times, starting two days before the second sampling until the pregnancy diagnosis. No differences were found ($P>0.05$) in time and percentage of ewes that showed oestrus, percentage of ewes that returned to oestrus, and percentage of ewes that became pregnant. The highest P_4 production (9.31 ± 2.18 ng ml^{-1} ; $P>0.05$) was found in Se treatment. This treatment also showed the highest levels of gamma-globulins (4.40 ± 0.22 gr dl^{-1} ; $P>0.05$) and Se (145.75 ± 8.00 $P<0.05$); whilst the highest activity of GSH-Px (3.07 ± 0.14 $\mu\text{moles of NADPH mg}^{-1}$ oxidized from protein min^{-1} ; $P>0.05$) was observed in the treatment with Se and vit E.

Key words: Se, GSH-Px, P_4 , gammaglobulines, anoestrus.

DEDICATORIA

A mi familia (Esther, Mi Loco, Carmen y el Bichoro) así como también a los perros (Gorda quien ya murió, el Chapito) y a los gatos (el niño, el negrito) también a la gatita Moquichitl y a la perra chaquira de Texcoco y por ultimo al perrito flaco de Guanajuato por hacer que la pasara más tranquilo.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico para la realización de mis estudios y por el apoyo financiero para la realización de la investigación a través de los fondos del proyecto 38286-B.

A México por que a través de los impuestos del gobierno hace posible que los estudiantes de postgrados tengamos recursos necesarios para realizar dichos estudios.

Al Colegio de Postgraduados y muy especialmente al consejo particular que me apoyo en todo momento para realizar esta tesis y culminar con mis estudios de postgrado.

CONTENIDO

| | Página |
|--|--------|
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1. Panorama de la ovinocultura en México..... | 1-2 |
| 2. REVISION DE LITERATURA | 3 |
| 2.1. Antecedentes de sincronización en época de anestro estacional..... | 3-4 |
| 2.2. Vitamina E y selenio como antioxidantes..... | 4-5 |
| 2.3. Antioxidantes y su relación con el daño celular..... | 5-10 |
| 2.4. Selenio como micronutriente esencial..... | 10-12 |
| 2.5. El α - tocoferol (Vitamina E)..... | 13 |
| 2.6. Vitamina E y Se en la reproducción..... | 13-14 |
| 2.7. Vitamina E, Se e inmunidad..... | 14-15 |
| 2.8. Dosis recomendadas de vitamina E y selenio..... | 15-17 |
| 3. OBJETIVOS | 18 |
| 4. HIPOTESIS | 18 |
| 5. MATERIALES Y METODOS | 19 |
| 5.1. Localización..... | 19 |
| 5.2. Animales..... | 19 |
| 5.3. Dieta..... | 20 |
| 5.4. Tratamientos..... | 21 |
| 5.5. Sincronización de estros..... | 21 |
| 5.6. Obtención de muestras de sangre y suero..... | 21-22 |
| 5.7. Variables evaluadas..... | 23 |
| 5.7.1 Tiempo de duración y porcentaje de presentación de estros..... | 23 |
| 5.7.2. Porcentaje de hembras que repitieron estro..... | 23 |
| 5.7.3. Porcentaje de hembras que quedaron gestantes..... | 23 |
| 5.7.4. Determinación de P ₄ | 24 |

CONTENIDO

| | Pagina |
|--|--------------|
| 5.7.5. Cuantificación de gammaglobulinas por medio de electroforesis..... | 24-25 |
| 5.7.6. Medición de la actividad de GSH-Px..... | 25-26 |
| 5.7.7. Cuantificación de selenio total en sangre..... | 26-27 |
| 5.8. Análisis estadístico..... | 27-28 |
| 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 29 |
| 6.1. Tiempo de duración y porcentaje de presentación de estros..... | 29-31 |
| 6.2. Porcentaje de hembras que repitieron estro..... | 31-32 |
| 6.3. Porcentaje de hembras que quedaron gestantes..... | 32-34 |
| 6.4. Cuantificación de P ₄ | 34-37 |
| 6.5. Cuantificación de gammaglobulinas..... | 37-40 |
| 6.6. Medición de la actividad GSH-Px..... | 40-42 |
| 6.7. Cuantificación de selenio total en sangre..... | 42-45 |
| 7. CONCLUSIONES..... | 46 |
| 8. RECOMENDACIONES..... | 47 |
| 9. LITERATURA CITADA..... | 48-57 |
| 10. ANEXOS..... | 58 |
| 1. Datos individuales de la actividad enzimática de GSH-Px..... | 58 |
| 2. Datos individuales de Se en sangre..... | 59 |
| 3. Datos individuales de gammaglobulinas séricas..... | 60 |
| 4. Datos individuales de P ₄ | 61-66 |
| 5. Horas en celo..... | 67 |
| 6. Diagnóstico de gestación..... | 68 |

LISTA DE CUADROS

| | Pagina |
|---|--------|
| Cuadro 1. Crecimiento en periodos de la producción ovina nacional expresada en porcentaje contra las importaciones..... | 2 |
| Cuadro 2. Porcentaje de ingredientes en la dieta..... | 20 |
| Cuadro 3. Análisis proximal de la dieta y contenido de fibra..... | 20 |
| Cuadro 4. Porcentaje de presentación y tiempo de duración de estros..... | 29 |
| Cuadro 5. Porcentaje de gestación por tratamiento..... | 32 |
| Cuadro 6. Concentración de gammaglobulinas (gr dl ⁻¹)..... | 38 |
| Cuadro 7. Concentración de NADPH (μmoles de NADPH oxidados mg ⁻¹ de proteína min ⁻¹)..... | 41 |
| Cuadro 8. Concentración de selenio en sangre (ppb)..... | 42 |

LISTA DE FIGURAS

| | Pagina |
|---|--------|
| Figura 1. Daño producido por los radicales libres en los fosfolípidos de las membranas celulares..... | 8 |
| Figura 2. Reacciones en las que participa la glutatión peroxidasa..... | 10 |
| Figura 3. Concentración de progesterona (ng ml^{-1})..... | 34 |
| Figura 4. Concentración de gammaglobulinas(gr dl^{-1})..... | 39 |
| Figura 5. Concentración de NADPH ($\mu\text{moles de NADPH oxidados mg}^{-1}$ de proteína min^{-1})..... | 41 |
| Figura 6. Cuantificación de selenio en sangre (ppb)..... | 44 |

Error! Reference source not found.

SUPLEMENTACIÓN DE SELENIO Y VITAMINA E EN BORREGAS PRIMERIZAS Y SUS EFECTOS EN VARIABLES REPRODUCTIVAS EN PERIODO DE ANESTRO ESTACIONAL

1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción ovinos varían de acuerdo a la región en que se desarrollen, así como del propósito de su producción. En Australia y Nueva Zelanda se destinan principalmente para la producción de lana y carne, en Europa y Medio Oriente es principalmente a la producción de leche; en las áreas tropicales, se orientan principalmente a la producción de carne, por lo tanto, las formas de producción ovina varían no solo por las condiciones climáticas que imperan, sino también por el tipo de producto que se desea lograr (Shimada, 2003).

1.1. Panorama de la ovinocultura en México

La producción de ovinos en México está enfocada a la de animales para pie de cría y la producción de corderos para engorda bajo sistemas intensivos, extensivos, semi-intensivos y de traspatio (SAGARPA, 2003).

En 2003, la SAGARPA estimó que el inventario de ganado ovino mexicano, se encontraba conformado por 6.8 millones de cabezas distribuidas en un 23% en la zona norte, 55% en la zona centro y el 16% en la zona sur del país (AMCO, 2005).

A pesar de su extensión territorial e infraestructura, México se ha caracterizado por sus importaciones de ganado ovino, siendo sus principales proveedores Nueva Zelanda (49%), Australia (41%), Estados Unidos (6%) y Chile (4%). El 96% se importa en canal y el 4% animales vivos. Las importaciones que se llevaron a cabo en el año 2002, ascendieron a 46,000 cabezas y 85,000 en el año 2005. En el caso de animales en pie, principalmente ha servido para abasto o para el pie de cría. También las importaciones han servido para la reproducción de animales, y en el periodo 2001 a 2005, se importó el 95% de Australia, 3% de

Nueva Zelanda, 1% Canadá y el restante 1% de Estados Unidos. En el cuadro 1 se observa que la producción nacional de carne ovina ha tenido un crecimiento fluctuante desde la década de los años 90's tendiendo a superar las importaciones a la producción nacional. Sin embargo, en 2004 se registró un incremento respecto a la década de los 90's (AMCO, 2005).

Cuadro 1. Crecimiento en periodos de la producción ovina nacional expresada en porcentaje contra las importaciones.

| PERIODO | CRECIMIENTO (%) |
|----------------|------------------------|
| 1991 – 1994 | 39 |
| 1995 – 1998 | 52 |
| 1999 – 2002 | 39 |
| 2003 | 43 |
| 2004 | 58 |

La producción ovina debe mantener una tendencia a seguir aumentando y ser más eficiente disminuyendo las importaciones, por tal motivo, una herramienta para lograr dichos objetivos es mejorar la función reproductiva en época de anestro estacional y con esto incrementar el tiempo de ciclicidad a través del año lo cual podría lograrse con la utilización de vit E y Se en ovejas reproductoras.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1. Antecedentes de sincronización en época de anestro estacional

La marcada influencia del efecto del fotoperíodo en la ciclicidad ocurre a través de la secreción de la hormona luteinizante (LH). La maduración final del óvulo es dependiente de la secreción suficiente de esta hormona. Durante la estación anovulatoria o anestro, la insuficiente secreción de estrógenos de los folículos inhibe fuertemente la liberación de LH. Como el fotoperíodo comienza a disminuir a finales del verano, y a principios del otoño, este efecto inhibitorio se pierde e incrementa la liberación de LH dando lugar a la ovulación y a la ciclicidad. Este alteración afecta los estrógenos del ciclo en la estación en que las cabras y ovejas no están ciclando y puede ser debido a cambios en la melatonina de la glándula pineal, glándula que afecta los cambios en la percepción de la luz por los ojos (Dawson, 2005).

La inducción del celo y la ovulación en las ovejas, consiste en aplicar tratamientos de tal manera, que puedan ciclar durante la temporada de anestro estacional (Izquierdo *et al.*, 1999). La sincronización de estros en ovejas y cabras se logra por el control de la fase lútea del ciclo estral, mediante la administración de Progesterona (P_4) exógena ó por inducción de luteolisis prematura, Esto último no es aplicable en época de anestro debido a la ausencia de un cuerpo lúteo pero la combinación de progesterona con gonadotropina vía exógena, puede permitir la sincronización del estro en época no reproductiva (Dutt, 1953; Wildeus, 1999).

Para lograr la sincronización del estro en periodo de anestro estacional, se han usado esponjas intravaginales impregnadas con P_4 o sus análogos sintéticos tales como acetato de medroxyprogesterona (MAP) y acetato de flourogestona (FGA), que se colocan generalmente por periodos que van de 6 a 14 días junto con eCG, y en ocasiones además se emplean inyecciones de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) 48 horas antes del retiro de las esponjas, obteniéndose buenos resultados (Greyling *et al.*, 1997; Vinales *et al.*, 2001).

La administración de gonadotropinas, tal como eCG, ha mostrado tener efectos estimulantes del crecimiento folicular e incremento de la tasa de ovulación en ovejas tanto en anestro como en época reproductiva (Cline *et al.*, 2001; Maurel *et al.*, 2003). Knights *et al.* (2001), encontraron que ovejas en periodo de anestro a las que se les aplicó análogos de P₄ (policaprolactona) en combinación con la introducción de carneros al momento del retiro del dispositivo con dicho análogo, fue mas efectivo que la sola introducción de carneros para inducir la sincronización de estros, la ovulación y la gestación después de uno o dos servicios, encontrando que el tratamiento con P₄ por 5 días fue más efectivo que el tratamiento por 12 días en la inducción de estros fértiles en ovejas tratadas con hormona folículo estimulante (FSH) en anestro estacional.

Izquierdo *et al.* (1999), evaluaron el uso de acetato de fluorogestona (FGA) como progestágeno y eCG en la inducción del estro con ovulación en ovejas anéstricas estacionales. Estos autores trataron 24 ovejas criollas anéstricas con un promedio de 2.5 años de edad y 40 kg. El experimento se realizó en los meses de mayo a junio, es decir, durante el periodo de anestro estacional. Se utilizaron esponjas vaginales con FGA y la administración de 460 UI de eCG por vía intramuscular dando como resultado 95.8% de celos inducidos. No existe información acerca de la utilización de vit E y Se en protocolos de sincronización en época de anestro estacional por lo que es importante determinar si la suplementación de estos antioxidantes afecta las variables reproductivas.

2.2. Vitamina E y Selenio (Se) como antioxidantes

El Se fue asociado con problemas de intoxicación mas que con deficiencias; sin embargo, en los últimos años se demostró su esencialidad e incluso la necesidad de incluirlo en las sales mineralizadas para los animales (Shimada, 2003). Los síntomas de deficiencia de Se pueden ser de dos tipos: lo que se asocian con la vitamina E y los de Se únicamente. La mayoría de los casos que se presentan en la práctica son del primer tipo (Shimada, 2003). Ambos antioxidantes protegen las membranas biológicas de la degeneración oxidativa. La falta de estos

nutrientes resulta en la degradación y degeneración de los tejidos (McDowell, 1997; Surai, 2007).

2.3. Antioxidantes y su relación con el daño celular

El término antioxidante originalmente fue referido a una sustancia química que prevenía el consumo de oxígeno molecular (Matill, 1947). En el siglo XIX y principios del siglo XX, los antioxidantes fueron el tema de muchas investigaciones en los procesos industriales tales como la corrosión de metales, explosivos y la explosión de combustible en los motores de combustión interna (Matill, 1947). Los antioxidantes pueden formar parte de enzimas que directa o indirectamente protegen a las células contra los efectos adversos de numerosas drogas y sustancias carcinogénicas. Tienen una gran capacidad para disminuir la carga de radicales libres en el organismo, que rompen a las moléculas en tres diferentes fases: iniciación, propagación y terminación, teniendo acción en cualquiera de éstas (Bendich, 1990).

El posible mecanismo de acción de los antioxidantes es que pueden contrarrestar el proceso de oxidación. Investigaciones de cómo la vitamina E previene el proceso de lipoperoxidación condujo a la comprensión de cómo los antioxidantes evitan la reacción en cadena de la oxidación causada por las especies reactivas al oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) antes de que dañen la célula (Wolf, 2005). Los RL (radicales libres) son átomos o grupos de átomos que tienen al menos un electrón no apareado, lo que hace que sea altamente reactivo (Barret, 2005), tienden a asociarse a un electrón libre, por lo que son altamente tóxicos y capaces de reaccionar con diversas moléculas orgánicas, mecanismo por el cual provocan daños a nivel celular y tisular, causando alteraciones funcionales en moléculas tales como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Toyokuni, 1999). De la gran diversidad de RL que se producen en el metabolismo celular, se puede mencionar al átomo de hidrógeno (H), triclorometil (CHCl_3), superóxido de oxígeno (O_2^-), hidroxilo (OH^\cdot), tiol (RS^\cdot), peroxil (RO_2^\cdot), alfil (RO^\cdot) y óxido de nitrógeno (NO^\cdot) (Miller *et al.*, 1993; Halliwell, 1994).

En los organismos vivos, los ROS tienen origen endógeno y exógeno. El primer grupo abarca a los RL generados intracelularmente y que actúan tanto dentro como fuera de la célula (Machlin y Bendich, 1987). Su producción, accidental o deliberada, se localiza en cuatro fuentes claramente definidas: a) durante el metabolismo aeróbico normal, las mitocondrias consumen oxígeno molecular y lo reducen hasta producir agua. Una pequeña fracción del oxígeno se metaboliza vía reducción univalente y los productos intermedios de esta reacción son el radical superóxido y el peróxido de hidrógeno; b) los peroxisomas que contienen acil coA oxidasa, dopamina -hidroxilasa, urato oxidasa entre otros, generan peróxido de hidrógeno como producto intermedio; c) el sistema enzimático citocromo P-450 constituye una defensa primaria contra varios xenobióticos y sustancias endógenas que aumentan la producción de RL; d) los aniones superóxido pueden ser producidos deliberadamente cuando los fagocitos (monocitos, neutrófilos y macrófagos) destruyen células infectadas, bacterias, virus y hongos (Barret, 2005), mediante una descarga oxidante compuesta básicamente por el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno, hipoclorito y óxido nítrico (Yu, 1994; Morrissey y O'Brien, 1998). El sistema inmune está constituido por la inmunidad innata (natural) y adquirida (adaptativa). La inmunidad adquirida está compuesta de linfocitos que son altamente activos y producen grandes cantidades de ROS, los cuales son una parte importante de su actividad normal (Boon y Soon, 2004).

Las fuentes exógenas incrementan en forma notable la producción de ROS (Miller *et al.*, 1993). Se ha establecido que un elevado consumo de algunos metales de transición como el Fe^{2+} y Cu^{2+} promueven la generación de RL a partir de peróxidos (Halliwell y Gutteridge, 1984; Morrissey y O'Brien, 1998). La capacidad de estos iones para aceptar y donar electrones constituye la base para la formación y propagación de muchas reacciones tóxicas (Halliwell, 1987; Halliwell y Chirico, 1993). Otras fuentes exógenas son la radiación, humo de cigarro, algunos solventes orgánicos y pesticidas, los productos de la oxidación de lípidos en alimentos (Kubow, 1993), la radiación solar, las micotoxinas (Miller *et al.*, 1993), el trauma, la hiperoxia y el exceso de ejercicio (Halliwell *et al.*, 1992).

Los tipos de antioxidantes que podemos encontrar son los que tienen una función de enzima como superóxido dismutasa, Se-catalasa, Se-glutatión peroxidasa (Bendich, 1990; Biewenga y Heanen, 1997) y como compuestos biológicos no-enzimáticos como la coenzima Q (CoQ), el α -tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), vitamina A y β -carotenos, entre otros. Los antioxidantes dietarios más ampliamente usados incluyen a la vit E, vit C, carotenoides, flavonoides, L-histidina y albúmina. También el uso de N-acetil-L-cisteína, el cual es un antioxidante que ha ganado popularidad en años recientes por tener la habilidad de evitar la proliferación de moléculas pro inflamatorias (Boon y Soon, 2004).

El estrés oxidativo es definido como la condición que ocurre cuando el balance fisiológico entre oxidantes y antioxidantes es quebrantado ocasionando daño al organismo. Afortunadamente los organismos aeróbicos poseen un sistema antioxidante 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 las biomoléculas dañadas. La generación de RL y la defensa antioxidante se encuentran en equilibrio; pero 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).

Los RL cumplen una importante función en diversos procesos homeostáticos como intermediarios en reacciones de oxidación-reducción (redox) esenciales para la vida. Descubrimientos recientes han mostrado que tienen un importante papel en la transducción de señales y en la regulación genética (Boon y Soon, 2004). La destrucción de microorganismos por fagocitosis, la síntesis de mediadores inflamatorios y la detoxificación constituyen algunos ejemplos relevantes. Las concentraciones bajas de RL son beneficiosas e incluso indispensables; sin embargo, en cantidades excesivas son tóxicos, ya que al oxidar moléculas biológicas las alteran y desencadenan trastornos en el metabolismo celular. Algunos estudios sugieren que en la destrucción de RL y la

disminución del daño celular, los antioxidantes en la dieta pueden tener efectos positivos en la salud, tal como es el caso de la degeneración macular, el mantenimiento del sistema inmune (Nantz *et al.*, 2006), la prevención de neurodegeneración (Wang *et al.*, 2006), de daños al ADN (Hillestrom *et al.*, 2006) y la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares (Covas *et al.*, 2006). Sin embargo se requiere de la participación de varios agentes antioxidantes para contrarrestar el daño oxidativo, ya que la intervención de uno solo contrarrestaría parcialmente dicho problema. Algunos antioxidantes se preservan, e incluso pueden reciclar a otros antioxidantes tales como la vitamina E que es reciclada por la vitamina C. La mayoría de las macromoléculas biológicas pueden ser oxidadas por los RL (Slater, 1984; Kehrer, 1993; Bandyopadhyay, *et a.*, 1999), sin embargo, las biomoléculas más lábiles son los lípidos (Cheeseman y Slater, 1993; Halliwell y Chirico, 1993). Los RL (figura 1) ejercen su acción patógena dañando la integridad de las membranas celulares, puesto que son capaces de fijarse a un carbono de la cadena alquilo ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-}$) de un ácido graso, iniciando la peroxidación lipídica. La importancia de este hecho estriba en que las cadenas de ácidos grasos, particularmente los poliinsaturados, se fragmentan justamente por el carbono que se ha transformado en radical libre, con lo que las estructuras fosfolipídicas de las membranas se desorganizan y destruyen.

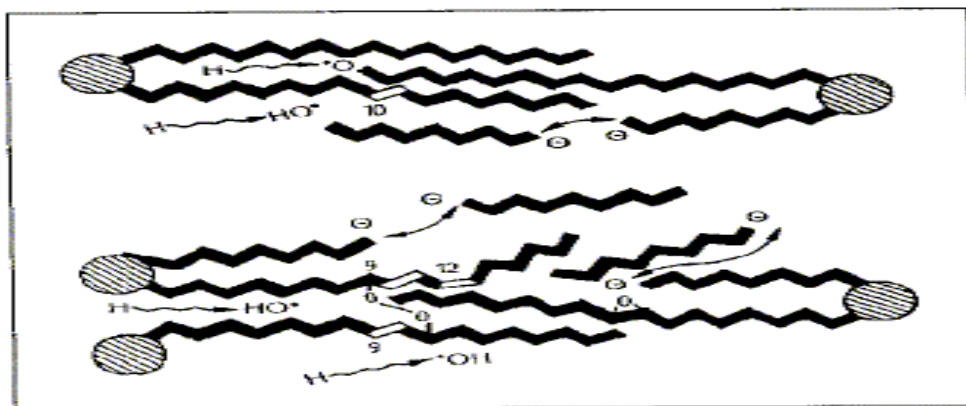


Figura 1. Representación esquemática del daño producido por los radicales libres en los fosfolípidos de las membranas celulares. Los trazos negros representan enlaces saturados; los blancos insaturados. Los radicales libres se fijan en diversos puntos de las cadenas y las "puentean" (*cross linking*, entrecruzamiento catalítico), las desorganizan y las rompen (Giménez, 1993).

Se ha observado que la presencia de cantidades significativas de aminoácidos aromáticos o sulfurados en una estructura proteínica la tornan más vulnerable a los RL (Morrissey y O'Brien, 1998). Estudios realizados *in vitro* precisan que las proteínas sufren alteraciones localizadas en los sitios ligados a metales de transición. Estos sitios son particularmente susceptibles debido a la facilidad con que los metales ligados reaccionan con el peróxido de hidrógeno para formar iones hidroxilo, los que posteriormente atacan a los aminoácidos adyacentes (Cheeseman y Slater, 1993). Kehrer (1993) plantea un ejemplo de los cambios que pueden desencadenar las ROS en su acción sobre las proteínas al describir los efectos sobre el gradiente de iones Ca^{+2} . El contenido intracelular de este ión es habitualmente diez mil veces menor en comparación con su concentración extracelular y cualquier perturbación que afecte su transporte altera significativamente la función celular. La enzima calcio ATPasa, encargada de mantener el gradiente de iones Ca^{+2} , contiene grupos tioles que pueden ser inactivados por las ROS. Cuando ello ocurre, se pierde la actividad catalítica de la enzima y se modifica de esta manera la homeostasis del Ca^{+2} . El incremento en la concentración intracelular de estos iones estimula la activación de proteasas, que atacan el citoesqueleto, y de nucleasas que fragmentan el ADN (Halliwell *et al.*, 1992). Actualmente este hecho se considera como una de las principales causas de alteración metabólica (Bandyopadhyay *et al.*, 1999). Los productos del daño oxidativo de proteínas son la formación de peróxidos y carbonilos (Cheeseman y Slater, 1993). Los carbohidratos, como la glucosa y otros monosacáridos relacionados, sufren peroxidación bajo ciertas condiciones y forman compuestos dicarbonílicos y peróxido de hidrógeno (Kubow, 1993). La importancia de este hecho radica en que estas biomoléculas una vez activadas pueden interactuar con otras y conformar nuevas asociaciones moleculares. El ADN también constituye un blanco de ataque por parte de las ROS, principalmente el ADN mitocondrial (Machlin y Bendich, 1987; Bandyopadhyay, *et al.*, 1999). Este ADN, por su localización, se encuentra expuesto a un flujo constante y elevado de ROS provenientes de la cadena respiratoria; además, carece de histonas en su estructura lo que le resta estabilidad. Por otra parte, se ha observado que sus

mecanismos de reparación son menos eficientes (Halliwell, 1997; Chaudière y Ferrari-Iliou, 1999). En general, dentro del espectro de alteraciones que puede sufrir el ADN se describe la oxidación de desoxirribosas, ruptura y entrecruzamientos de cadenas y la modificación de bases nitrogenadas, principalmente. Sin embargo, estas alteraciones serán significativas en la medida que sean intensas y capaces de eludir los sistemas de reparación antes de que ocurra la replicación (Cheeseman y Slater, 1993).

2.4. Selenio como micronutriente esencial

Este mineral es necesario en el crecimiento, reproducción, prevención de varias enfermedades, así como también para la protección e integridad de los tejidos. La función metabólica del Se está estrechamente relacionada a la vitamina E (McDowell, 1997). Más de 20 selenoproteínas han sido caracterizadas por purificación, clonación, expresión recombinante y a nivel de sus funciones a través de técnicas de bioinformática. Un total de 25 genes que codifican para selenoproteínas han sido detectados en el genoma humano. Algo similar podría ser en animales (Kryukov y Gladyshev, 2002; Lescure *et al.*, 2002; Hatfield y Gladyshev, 2002).

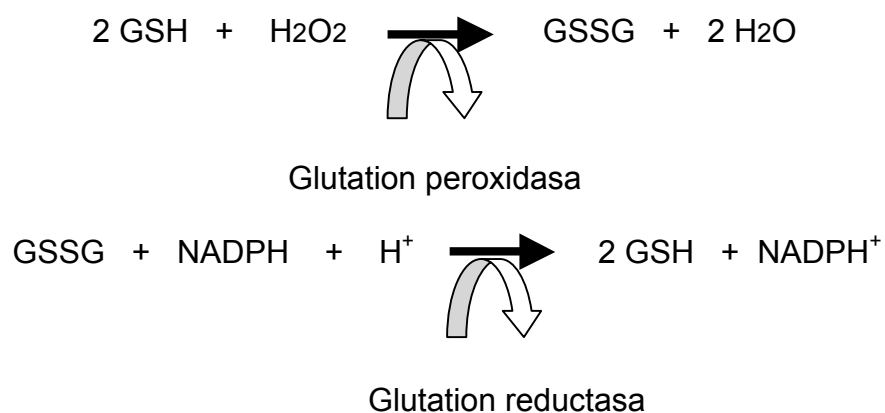


Figura 2. Reacciones en las que participa la glutatión peroxidasa (Maas, 1990).

El Se puede actuar como un antioxidante en el espacio extracelular, en citoplasma, en asociación con las membranas celulares y específicamente en el tubo digestivo. Adicionalmente las tioredoxin reductasas que contienen Se pueden actuar también como antioxidantes (Miller *et al.*, 2001). Se han encontrado también las selenoproteínas P y W. La función de la selenoproteína P no es clara, aunque se pensó originalmente que tenía una función de transporte distribuyendo el Se a los diferentes órganos por la circulación. La selenoproteína W está presente en músculo esquelético con una subunidad molecular con peso de 9,5 Kda. La función de la selenoproteína W no se ha identificado, se piensa que tiene propiedades antioxidantes. La pérdida de esta selenoproteína se asocia con la enfermedad del músculo blanco en ovejas, en la que se combina la deficiencia de Se y vitamina E (Hatfield y Gladyshev, 2002).

Otra proteína que contiene Se es la selenofosfato sintetasa que cataliza la producción de selenofosfato. El selenofosfato es un precursor inorgánico esencial para la selenocisteína a partir de la serina durante la síntesis de selenoproteínas (Boon y Soon, 2004). En la cápsula espermática ha sido identificada otra selenoproteína, la cual es consistente con el papel del Se en el mantenimiento de la fertilidad normal. La selenoproteína es el mayor componente de la cápsula espermática y se ha postulado que tiene una función estructural. Con respecto a la función inmune hay también una selenoproteína de 15 kDa (kilodaltones) que ha sido identificada en las células T, sin embargo su función no ha sido esclarecida (Boon y Soon, 2004).

Existen las selenoproteínas iodotironina deiodinasa (ID I, II, III). La ID tipo I (ID I) se encuentra en el hígado, riñón, cerebro, pituitaria y tejido adiposo café en rumiantes. La ID tipo II (ID II) se encuentra en cerebro y pituitaria de las especies examinadas y tejido adiposo café en humanos. La ID II cataliza la conversión de T4 a T3. La ID III convierte T4 a T3 y T3 a diiodotironina, se encuentra en cerebro, piel y placenta y su función es desactivar las hormonas tiroideas. La deficiencia de Se en las hormonas tiroideas plasmáticas causada por los descensos en la actividad de ID I causa un marcado incremento (superior al doble) en la concentración de T4 y un descenso en la concentración de T3. Sin embargo, en

deficiencias de Se prolongadas, la concentración de la hormona tiroidea plasmática pueden retornar a los niveles normales a pesar del gran descenso en la actividad de la ID I en el hígado y riñón (McKenzie *et al.*, 2002). Así, por medio de las selenoproteínas, el Se puede influenciar tres amplias áreas de la función celular a través de actividades antioxidantes, metabolismo de las hormonas tiroideas y regulación de las proteínas con actividad REDOX (McKenzie *et al.*, 2002). Todos esos efectos generales del metabolismo pueden estar asociados con procesos específicos que afectan el sistema inmune.

Otros papeles bioquímicos adicionales del Se, no relacionados a la GSH-PX son las siguientes:

- El Se puede incorporarse a las bases púricas y pirimidicas de los ácidos nucleicos.
- Tiene un importante papel en la síntesis de prostaglandinas y metabolismo de ácidos grasos esenciales.

El Se se encuentra en una gran variedad de suelos y rocas alrededor del mundo. Esto se refleja en las diferentes cantidades de Se en el forraje y dietas de animales y humanos que consumen alimentos producidos en sus localidades (Arthur *et al.*, 2003). Sin embargo, la deficiencia de Se es un problema en el continente americano, principalmente en países como Canadá, EUA y algunos de Sudamérica (Georgievskii *et al.*, 1982; McDowell 1985; Sanson, 1990).

Según NRC (1985) una concentración de Se en el suelo menor de $0.05 \mu\text{g}^{-1}$ se clasifica como deficiente. En el norte de México es selenífera y selenodeficiente desde el altiplano hacia las costas (Ordóñez *et al.*, 1990) y las zonas neovolcánicas de México son deficientes en este elemento. El Se elemental de los suelos se encuentra como selenito, biselenito o selenato. La baja concentración de Se en los suelos puede agravarse asociada con otros factores. Si el pH del suelo es neutro o ácido (a pH ácido es menor su absorción por las plantas), el selenito, que es la presentación más abundante del elemento, no estará disponible para el organismo animal (Rosemary, 1990). El bajo consumo de Se en la dieta en animales y en humanos causa diversas enfermedades que se asocian con deficiencia de vitamina E (Turner y Finch, 1991; Wichtel, 1998).

2.5. α - tocoferol (Vitamina E)

La vitamina E se reconoció por primera vez como un compuesto liposoluble necesario para la reproducción de las ratas. El α -tocoferol es la forma biológicamente mas activa de la vitamina E, pero existen otras formas del tocoferol que se han designado con prefijos beta y gama. En tejidos animales se encuentran otros compuestos con estructura química similar a la de los tocoferoles que tienen una actividad biología limitada. La vitamina E es un compuesto muy inestable teniendo como característica que su oxidación aumenta la presencia de minerales y de ácidos grasos poliinsaturados y la disminuye la esterificación para formar acetato de tocoferil. La mayoría de la vitamina E disponible en el mercado se encuentra en forma de acetato DL- α -tocoferol (Church *et al.*, 2002). El isomero D es más activo que el L.

La principal función de la vitamina E es su efecto antioxidante. Mediante esta acción, protege los tejidos de los efectos nocivos de las toxinas ambientales y del daño consecuente, contribuyendo a prevenir el envejecimiento de las células y tejidos. La vitamina E es un excelente antioxidante que previene la destrucción de las membranas celulares y subcelulares gracias a que evita la formación de RL (Church *et al.*, 2002).

2.6. Vitamina E y Selenio en la reproducción

Wu *et al.* (1973) observaron que ratas que recibieron dietas selenio-deficientes e hijos de ratas alimentadas con dietas Se deficientes tuvieron baja producción de espermatozoides, además de un incremento en la producción de espermatozoides con anormalidades y baja motilidad, y que el hecho de suplementar con vitamina E (acetato de α -tocoferol, 1000 ppm) no evitó dicho trastorno. Datos reportados por Segerson y Ganapathy (1980) sugirieron que el aumento en la fertilización *in ovo* en borregas tratadas con Se mas vitamina E se debió a un incremento en el número de contracciones uterinas hacia el oviducto en el tiempo de monta, posiblemente debido a que mas espermatozoides fueron

transportados al oviducto. El esclarecimiento de cual de los dos nutrientes fue el principal responsable del incremento en el número de contracciones no fue determinado en este estudio. Sin embargo Segerson *et al.* (1980) encontraron que el Se es mas importante que la vitamina E para afectar la motilidad uterina y velocidad de contracción, pero aparentemente no influye en el número de picos eléctricos por minuto o la amplitud media de esos picos. Mohammed *et al.* (1991) llevaron a cabo un estudio para correlacionar valores de Se en sangre y el riesgo de la presentación de quistes ováricos en vacas Holstein, encontrando que animales con niveles por arriba de 169 ng ml^{-1} corrían el doble de riesgo de presentar quistes ováricos comparados con los que presentaban niveles menores a 108 ng ml^{-1} de Se en sangre.

En otras investigaciones (Harrison y Conrad, 1984) en relación a la suplementación de vitamina E y Se, se ha encontrado que una dosis de $680 \text{ U.I. día}^{-1}$ de vitamina E más 50 mg de Se aplicándolo intramuscularmente tres semanas antes del parto, tiene un efecto al disminuir la incidencia de retención placentaria. Goff *et al.* (1991) reportaron la relación que existe entre la producción de ROS y la incidencia de los casos de fiebre de leche y retención placentaria en vacas recién paridas, debido a una deficiencia de vitamina D, la cual tiene una importante función en mantener los niveles de Ca en el organismo. Este fenómeno se presenta al existir un desbalance entre los niveles de vitamina D y la producción excesiva de ROS, los cuales inhiben a la enzima citocromo P450 que estimula a la 1-25 dihidroxicolecalciferol (forma activa de la vit D).

2.7. Vitamina E, Selenio e inmunidad

Al suplementar con 0.3 ppm de Se a ovejas gestantes Rock (2001) observó un efecto positivo en el metabolismo de la tiroxina y la inmunidad celular. En tanto que Pesutic *et al.* (2001) observaron que la suplementación con Se en vaquillas en pastoreo no favoreció la respuesta inmune humoral ni celular.

A la vitamina E se le ha relacionado con la producción de IgG y al Se con la producción de IgM e IgG (Spallholz *et al.*, 1973) lo que significaría que la

deficiencia de ambos provocaría una inmunodepresión. Con relación al efecto del Se en la concentración de inmunoglobulinas en el calostro y la absorción de ellas en el ternero recién nacido, los estudios realizados son escasos y presentan resultados variables. Por una parte, se ha señalado que la administración de Se solo o con vitamina E en vacas de carne, a mitad de la gestación y pastoreando en praderas selenio-deficientes, aumenta las concentraciones de IgG en el calostro y en el suero de los terneros (Swecker *et al.*, 1995). Sin embargo, otros estudios señalan que el Se y la vitamina E favorecen la producción de calostro y leche pero no benefician la inmunidad pasiva (Lacetera *et al.*, 1996).

No hay reportes en la literatura relacionando los efectos tóxicos de minerales sobre las inmunoglobulinas (Ig's) transferidas desde el calostro al neonato. La principal subclase de inmunoglobulina presente en el calostro de ovejas es la IgG (Smith *et al.*, 1975). Se ha demostrado que altos consumos de vitaminas y minerales en ovejas gestantes causan que pasen bajas cantidades de IgG a los corderos (Boland *et al.*, 2005), ya que la placenta actúa como una barrera en el útero y evita la transmisión de Ig en ungulados y corderos (O'Doherty y Crosby, 1997), becerros (Schultz *et al.* 1973), lechones (Porter, 1969) y potrillos (Rejnek *et al.*, 1973); por lo que todos nacen con bajas cantidades de inmunoglobulinas en el suero. A esos animales, por lo tanto, se les deben suministrar las inmunoglobulinas en las primeras semanas de vida, incluso horas de vida, por medio del consumo de calostro, por lo que se ha observado que al llevar acabo esto, los títulos de IgG en estos animales se incrementan (Machado-Neto *et al.*, 1987; O'Doherty y Crosby, 1997; Quigley *et al.*, 2000).

2.8. Dosis recomendadas de vitamina E y Selenio

Existen diversas recomendaciones de los niveles óptimos de consumo de Se en ovejas en diferentes investigaciones realizadas durante los últimos años, de las cuales podemos mencionar:

- Zachara *et al.* (1992) recomiendan 0.25 mg Se kg⁻¹ de MS, ya que ellos concluyeron que este nivel de Se es suficiente para cubrir los requerimientos de Se sanguíneo y mantener una buena actividad enzimática de GSH-Px en corderos.
- Sánchez *et al.* (2007) recomiendan 1 mg de Se kg⁻¹ de PV para pequeños rumiantes en áreas Selenio deficientes para incrementar la actividad de GSH-Px, así como también para aumentar la producción de leche y disminuir el conteo de células somáticas (CCS) e incidencia de mastitis.
- Davis *et al.* (2006) encontraron que el nivel máximo tolerable de Se inorgánico puede ser arriba de 2 mg kg⁻¹ en ovejas tanto en lactación y gestación.
- Segerson y Ganapathy (1980) recomiendan 10 mg día⁻¹ de Se en forma de selenito de sodio para mantener una adecuada motilidad uterina y con ello mejorar la función reproductiva de ovejas.

Aunque existen variadas recomendaciones generadas por las diferentes investigaciones, el NRC (1985) recomienda que los niveles de Se para ovejas sean de 0.1 a 0.3 ppm. También se ha generado un gran número de recomendaciones para la vitamina E, de los cuales podemos mencionar:

- Vipond (1984) recomienda suplementar con 100 U.I. día⁻¹ a ovejas destinadas a la reproducción (ovejas de reemplazo) para mejorar las variables reproductivas.
- Segerson y Ganapathy (1980) recomiendan 136 I.U. día⁻¹ de vitamina E para mejorar la reproducción en ovejas ya que determinaron que con esta cantidad de vitamina E se mejora la fertilidad *in ovo*.
- Hatfield *et al.* (2002) concluyeron que la suplementación con 330 U.I. día⁻¹ de vitamina E a ovejas de reemplazo, estimula la función inmune y con ello la prevención de enfermedades.
- Nockels (1986) sugiere que la suplementación con 6 a 20 veces más de los niveles recomendados de vitamina E por el NRC, mejora la respuesta inmune en los animales.

Los requerimientos dietarios de vitamina E para ovejas, no están claramente definidos. El NRC (1985) recomienda de 10 a 70 UI de vitamina E kg^{-1} (1 I.U. es igual a 1 mg de acetato de tocoferol), para prevenir la enfermedad del músculo blanco. Como ya se ha mencionado, existen diversas recomendaciones en cuanto a los niveles adecuados de vitamina E y Se para mejorar la salud de los ovinos por medio de mejorar la inmunidad, aumentando las defensas antioxidantes y con esto mejorar la función reproductiva.

3. OBJETIVOS

Mejorar las variables reproductivas en ovejas primerizas en época de anestro estacional por medio de la suplementación de vitamina E y Se.

Aumentar la actividad reproductiva en los días con mayor duración de luz solar (fotoperiodo).

Por medio de la suplementación de vitamina E y Se aumentar la actividad de GSH-Px y producción de gammaglobulinas.

4. HIPOTESIS

La suplementación con vitamina E y Se mejora la fertilidad en ovejas primerizas en época de anestro estacional y su capacidad inmunológica.

5. MATERIALES Y METODOS

5.1. Localización

La presente investigación se realizó 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, 1988).

5.2. Animales

Se utilizaron 32 borregas primerizas de las razas Dorset, Suffolk y cruce de ambas, con peso promedio de 35 ± 3 kg de peso vivo (PV) y 8 meses de edad. A partir de los ocho meses de edad fueron alimentadas con una dieta balanceada (cuadro 1) con el propósito de ganar peso hasta un promedio de 40 ± 3 kg a los 10 meses de edad, ya que ovejas con menor peso, presentan problemas reproductivos. Antes de iniciar la suplementación, se desparasitaron con ivermectina (400 mcg de Iverject F[®], laboratorios Avilab), se vitaminaron con 500.000 UI de vitamina A, 75,000 UI de vitamina D₃ y 50 UI de vitamina E (Vigantol[®], laboratorios Bayer) y se vacunaron con Bobac 8[®], (Laboratorios Intervet) para protegerlas contra las principales enfermedades clostridiales. Los animales estuvieron alojados en un corral con agua y alimento a libre acceso y fueron sujetos a sincronización de estros para mantenerlos reproductivamente en una etapa sexual similar. La suplementación de Se y vitamina E inició cuando los animales tenían 10 meses de edad, proporcionándose dos semanas previas a la sincronización.

5.3. Dieta

Se proporcionó la misma dieta desde los ocho meses y durante todo el periodo experimental, 50% forraje y 50% de concentrado, la cual contenía los siguientes ingredientes y proporciones:

Cuadro 2. Porcentaje de ingredientes en la dieta.

| INGREDIENTE | MATERIA SECA (%) |
|-----------------|------------------|
| Heno de alfalfa | 30.00 |
| Heno de avena | 20.00 |
| Sorgo molido | 45.40 |
| Pasta de soya | 3.60 |
| Minerales* | 1.00 |
| | 100% |

* 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 que se utilizó para formular la dieta fue el Used Feed Formulation Done Again (UFFDA) (Pesti y Miller, 1993). A los animales se les proporcionó 1.5 kg de alimento diariamente para satisfacer sus requerimientos nutricionales (NRC, 1985). El análisis de materia seca y proteína cruda se determinó por el método de AOAC (1990) y fibra ácido detergente (FDA) y fibra neutro detergente (FND) mediante la técnica de Van Soest *et al.*, (1991) (cuadro 3).

Cuadro 3. Análisis de la dieta y contenido de FND y FDA.

| COMPOSICIÓN QUÍMICA | % |
|---------------------|-------|
| Humedad | 9.08 |
| Materia seca | 90.92 |
| Proteína cruda | 15.43 |
| FDN | 30.23 |
| FDA | 25.41 |

5.4. Tratamientos

Los animales se distribuyeron al azar en cuatro tratamientos con 8 repeticiones (n=8).

Los tratamientos que se evaluaron fueron:

- 1) Testigo.
- 2) Suplementación con vitamina E (400 U.I. animal⁻¹ día⁻¹).
- 3) Suplementación con Se (0.2 ppm kg⁻¹ de alimento día⁻¹).
- 4) Suplementación con Se y vitamina E (0.2 ppm kg⁻¹ alimento día⁻¹ + 400 U.I. animal⁻¹ día⁻¹).

El Se se proporcionó como 0.00045 gr de selenito de sodio al 45% vía oral (concentración del Se en el compuesto) por animal diluido en 2 ml de agua destilada, mientras que la vitamina E se dio a razón de 0.8 gr de acetato DL- α -tocoferol al 50% por vía oral. Tanto la vitamina E como el Se, se pesaron en una balanza analítica con capacidad para 2610 gramos de la marca Dial-0-gram.

5.5. Sincronización de estros

Los animales se sincronizaron con progestágenos utilizando esponjas vaginales con acetato de flourogestona (FGA Chronogest, Laboratorios Intervet) de 40 mg por animal, las cuales permanecieron colocadas vaginalmente por un periodo de 12 días. El mismo día del retiro de la esponjas, se aplicaron 300 UI de gonadotropina sérica (eCG) por animal (Folligon[®], Intervet) para estimular el crecimiento y maduración de los folículos.

5.6. Obtención de muestras de sangre y suero

Se colectaron muestras de sangre antes de la suplementación con Se y vitamina E (muestreo 1), al inicio de la sincronización (muestreo 2), al final de la sincronización (muestreo 3) y al momento del diagnóstico de gestación (muestreo

4), utilizándose las muestras de cuatro animales por cada tratamiento para determinar GSH-Px, inmunoglobulinas, Se y P₄.

Para la determinación de Se, se obtuvieron muestras de sangre por punción de la vena yugular (5 ml) en cada uno de los animales, la cual se conservó en tubos vacutainer con heparina como anticoagulante en una relación 4:1 (cuatro partes de sangre por una de heparina) para determinar Se. La sangre fue congelada a -20 °C. 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 en cada uno de los cuatro muestreos. Se centrifugó a 1800 g por 15 minutos y una vez obtenido el suero, se congeló a -20°C.

Para la determinación de P₄, se colectaron muestras de sangre cada 48 horas (cada tercer día) iniciando dos días antes del segundo muestreo para Se, GSH-Px y gammaglobulinas (día -18) y hasta el diagnóstico de gestación (día 24) bajo el siguiente esquema:

| Muestreo | Día |
|-----------------|-------------|
| día -18 | muestreo 1 |
| día -15 | muestreo 2 |
| día -12 | muestreo 3 |
| día -9 | muestreo 4 |
| día -6 | muestreo 5 |
| día -3 | muestreo 6 |
| día 0 | muestreo 7 |
| día 3 | muestreo 8 |
| día 6 | muestreo 9 |
| día 9 | muestreo 10 |
| día 15 | muestreo 11 |
| día 18 | muestreo 12 |
| día 21 | muestreo 13 |
| día 24 | muestreo 14 |

Durante el experimento se requirió de excluir animales ya que en el tratamiento con Se y vitamina E una oveja no respondió al protocolo de sincronización y otra sufrió prolapso uterino, mientras que en el tratamiento testigo una oveja ya estaba gestante.

5.7. Variables evaluadas

5.7.1. Tiempo de duración y porcentaje de presentación de estros

El día en que se retiraron las esponjas y tres días posteriores a esto, las ovejas fueron expuestas a seis sementales sexualmente activos de las mismas razas que las ovejas, entrenados para detectar celos, para determinar el tiempo en el cual los animales permanecieron en estro y el número de animales que lo presentaron. Cada cuatro horas, las ovejas fueron expuestas a los machos, los cuales se rotaban cada que montaban en cuatro oportunidades para no agotarlos y propiciar la producción de semen, de esta manera se aseguró que se les depositara semen en la vagina a las borregas al momento de la monta, también se registró la duración del estro.

5.7.2. Porcentaje de hembras que repitieron estro

Se utilizaron sementales para detectar el retorno al estro, estos sementales fueron expuestos desde el día 14 posterior al último día de las montas ya que el periodo del ciclo sexual de la oveja es de 17 ± 3 días. Se realizó el mismo procedimiento utilizado para detectar estros, para registrar el retorno al estro.

5.7.3. Porcentaje de hembras que quedaron gestantes

Treinta días posteriores a las montas, se realizó el diagnóstico de gestación con un aparato de ultrasonografía SONOVET 600 con transductor transrectal de 7.5 MHZ. Las ovejas fueron colocadas en decúbito dorsal y de esta manera el transductor fue introducido vía rectal para detectar las estructuras embrionarias, que indicaban la gestación.

5.7.4. Determinación de P₄

La determinación de la concentración de P₄ se realizó en el Laboratorio de Hormonas Proteicas del Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubirán de la Ciudad de México (INNSZ). El método utilizado fue inmunoenzimático por medio de un kit comercial (Immunometrics-UK). La sensibilidad del análisis fue de 0.1 ng ml⁻¹ cuyo coeficiente de variación (CV) intraanálisis e interanálisis fue de 8.3 y 10.7% respectivamente.

5.7.5. Determinación de gammaglobulinas por medio de electroforesis

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) empleando el siguiente procedimiento:

Se preparó agarosa (Sigma-Aldrich[®]) la que se depositó en un matraz Erlenmeyer, con ayuda de una pipeta de 10 ml se colocaron 4 ml de la solución de agarosa en un porta objetos donde previamente se había colocado una molde (peine) para formar los pozos donde se colocó el suero. En cada laminilla se hicieron dos pozos y en cada uno de ellos se colocó una muestra diferente, es decir, en cada uno se depositaba el suero de borregas diferentes.

Se hizo una dilución de los sueros manteniendo una relación 1:10 y de dicha dilución 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[®]), donde se colocó un cristal, para a su vez colocar los portaobjetos.

Preparada la cámara de electroforesis, esta 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. Desplazado el suero 3 cm, se fijó con ácido tricloroacético. Ya fijadas las proteínas, se tiñeron con colorante Ponceau y por último se pasaron las laminillas por una solución de acido acético glacial para quitar el excedente de colorante

(solución lavadora). Posterior a esto, las laminillas se colocaron en un desecador a 35 °C por 24 horas, a las laminillas se les colocó papel absorbente humedecido para mejorar la desecación y conservar el agar. Una vez secas las laminillas, con ayuda de agua destilada, se quitó el papel absorbente y se volvieron a pasar por la solución lavadora hasta remover el excedente de colorante y se dejaron secar a 37°C. Finalmente se colocaron en un fotodensitómetro para determinar el porcentaje de gammaglobulinas.

5.7.6. Medición 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 µl de esta para dicha determinación. La actividad de GSH-Px fue cuantificada con base a lo reportado por Lawrence y Burk, (1976); Flohé y Günzler, (1984) y 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 |
| Glutati3n reducido* | 6.2 mM |
| Glutati3n 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 cubeta de cuarzo se agregaron 50 μ l del buffer de fosfatos, 50 μ l de muestra (suero) y 800 μ l de mezcla de reacci3n. El buffer de fosfatos y la mezcla de reacci3n, se prepararon el mismo d3a y se mantuvieron a 4°C en un recipiente con hielo. La mezcla fue preincubada por 8 minutos a 37 °C, despu3s se le adicionaron 100 μ l de H₂O₂ (30%, soluci3n comercial). Se agiti3 manualmente y el consumo de NADPH fue determinado con un espectrofot3metro a 340 nm. Se registr3 una lectura inicial y la decadencia de la absorci3n se registr3 nuevamente a los 5 minutos. Bajo el mismo esquema, se trabaj3 una reacci3n no enzimática, donde se sustituy3 la muestra por el buffer (blanco).

5.7.7. Determinaci3n de selenio total en sangre

La concentraci3n de Se total en sangre, se determin3 en el 3rea de Farmacia del Campo Uno de la FES-Cuautitlan. La t3cnica utilizada fue con base a lo reportado por Jurišić *et al.* (2003). Las muestras se descongelaron a temperatura ambiente y ya descongeladas se tom3 0.5 ml de muestra \pm 0.05 ml para ser colocada en vasos para horno de microondas (Mars 5). La sangre fue pesada con la ayuda de una balanza analítica (BOECO Germany, con m3ximo de 120 gr un m3nimo de 0.01 gr), la sangre se tom3 con una pipeta de 100 a 1000 μ l (Labsystem). A la sangre colocada en el vaso, se le agreg3, con ayuda de una micropipeta con capacidad de 1 a 5 ml (Labsystem) y en una campana de extracci3n (Labconco®) para evitar la salida de gases, 5 ml de agua desionizada, 2.5 de 3cido n3trico y 1 ml de per3xido de hidrogeno al 30%. Luego de esto, se dej3 reposar por 20 minutos, se coloc3 la tapa al vaso y se pas3 a la camisa del

carrusel (HP500 plus) cerrada a presión para ser introducida al horno de microondas. Ya introducida en el horno de microondas, se siguió el siguiente proceso:

En cuatro minutos la temperatura se elevó a 140 °C y se mantuvo por dos minutos, posteriormente se elevó a 180 °C y se mantuvo por ocho minutos. Después de este tiempo, se tuvieron las muestras a 200 °C y se mantuvieron por cuatro minutos para finalmente enfriarse por cinco minutos. Concluido este proceso, se sacaron los vasos del carrusel y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Ya enfriados los vasos, se enjuagaron con ácido clorhídrico 7 molar (HCL 7M) y con este mismo ácido se aforó a 25 ml, para posteriormente leerse en espectrofotómetro de absorción atómica.

5.8. Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar y la unidad experimental fue cada oveja. Los animales se distribuyeron de manera aleatoria para cada tratamiento. Para las variables, cuantificación de gammaglobulinas por medio de electroforesis, actividad GSH-Px, cuantificación de Se en sangre y cuantificación de P₄, el modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + v_i + \psi_{k(i)} + \tau_j + v\tau_{ij} + \xi_{jk(i)} \quad i = 1, 2, \dots, 4 \quad ; \quad j = 1, 2, \dots, 8$$

donde:

Y_{ijk} = Variable respuesta (gammaglobulinas, GSH-Px, Se y P₄)

μ = media general

v_i = efecto del i-ésimo tratamiento (selenio y vitamina E).

$\psi_{k(i)}$ = efecto de la k-esima repetición (ovejas) anidada dentro de i-esimo tratamiento.

τ_j = efecto del j-ésimo tiempo de muestreo

$v\tau_{ij}$ = interacción tratamiento x tiempo de muestreo

$\xi_{jk(i)}$ = error experimental

Para el análisis de las variables y porcentaje de presentación de estros, porcentaje de hembras que repitieron estro, porcentaje de hembras que quedaron

gestantes, se utilizó la prueba de Chi cuadrada (χ^2) y prueba exacta de Fisher por medio del PROC FREQ (SAS, 1999-2000). Para el análisis de la variable tiempo de duración de estros se utilizó la prueba de análisis de varianza por medio de GLM (SAS, 1999-2000) para un diseño completamente al azar:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_j + \xi_{ijk}$$

donde:

Y_{ijk} = variable respuesta.

μ = media general.

τ_j = efecto del j-ésimo tratamiento.

ξ_{ijk} = efecto del k-ésimo error experimental

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Tiempo y porcentaje de presentación de estros

En el porcentaje de presentación de estros, no se encontraron diferencias entre tratamientos ($P>0.05$), lo que significa que no hubo efecto debido a la suplementación de vitamina E y Se en la presentación de éstos. De la misma manera en la medición del tiempo de duración de estros, no hubo diferencias ($P>0.05$) entre tratamientos (Cuadro 4), debido posiblemente al número de animales utilizados en el experimento.

Cuadro 4. Porcentaje de presentación y tiempo de duración de estros.

| Tratamiento | n | % de estros | Duración de estros (h) |
|-------------|-----|-------------|------------------------|
| Testigo | 7/8 | 100 | 25 |
| Vit E | 8/8 | 100 | 25 |
| Se | 8/8 | 100 | 25 |
| Se y Vit E | 6/8 | 86 | 24 |

Los resultados de este trabajo son similares a los obtenidos por Izquierdo *et al.* (1999), donde se obtuvo una duración de estros con promedio de 26 horas, indicando que se debió al periodo de época no reproductiva, ya que regularmente en época de ciclicidad ovárica la duración de estros puede durar hasta 30 horas. El 96.5% de las hembras sincronizadas presentaron estros (agrupando los cuatro tratamientos), por lo que seguramente el efecto se debió a la alimentación que recibieron, que cubrió sus requerimientos nutricionales de acuerdo con el análisis de la dieta, comparando con tablas de requerimientos nutricionales para ovejas de reemplazo (NRC, 1985), así como también al protocolo de sincronización de estros.

En el presente estudio únicamente un animal no presentó signos de estro, por lo que seguramente la alimentación adecuada que recibieron, tuvo un efecto directo en que los animales ciclaran y por tal motivo la mayoría presentó signos de estro. Estos resultados concuerdan con el trabajo de Izquierdo *et al.* (1999) quienes realizaron la sincronización de estros en ovejas en anestro estacional mediante la aplicación de esponjas intravaginales impregnadas con FGA por 14 días y 460 U.I. I.M. de eCG con los que se obtuvo el 95.8% de presentación de estros, lo cual se debió al aumento en la liberación de gonadotropinas hipofisarias, que estimulan el crecimiento folicular y la ovulación. Sin embargo Izquierdo *et al.* (1999) no aplicaron vitamina E y Se como en el presente trabajo y obtuvieron porcentajes similares en cuanto a la presentación de estros debido posiblemente al adecuado manejo reproductivo (protocolo de sincronización).

De igual forma, Galina y Valencia (2006) al aplicar eCG (400 a 600 U.I. I.M.) y un progestágeno de 8 a 14 días en ovejas en anestro estacional, obtuvieron porcentajes de hasta el 90% de efectividad. Es importante mencionar que las ovejas presentaron signos de estro dentro de las primeras 48 horas después de retirado el progestágeno (FGA), lo que coincide con Fukui *et al.* (1999) quienes reportaron el 100% de presentación de estros en ovejas de la raza Suffolk cíclicas dentro de las primeras 48 horas después de retirado un dispositivo intrauterino impregnado con progesterona (CIDR), el cual permaneció colocado en las ovejas por un periodo de 12 días, más la aplicación de 500 U.I. I.M. de eCG. A diferencia del presente estudio, Fukui *et al.* (1999) realizaron su investigación con ovejas cíclicas y obtuvieron resultados similares a los de este trabajo respecto a la aparición de los signos de estros. McDonald *et al.* (1993) mencionan que el consumo de vitamina E en las dietas de los animales aumenta la tasa de fertilidad, ya que interviene evitando la oxidación de hormonas esteroides (lipoperoxidación) y como consecuencia, se presentaran signos de estro en lo animales. En la presente investigación no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) entre tratamientos, por lo que la suplementación con vitamina E y Se no tuvo efecto en el número de animales que presentaron signos de estro.

Hartley y Grant (1961) concluyeron que la suplementación con vitamina E y Se es necesaria para que los animales presenten signos de estro, ya que sin estos antioxidantes la fertilidad en los animales estará afectada negativamente. En el caso de esta investigación, no se observó efecto de la vitamina E y del Se en la presentación de signos de estro, por lo que posiblemente el número de animales empleados en el experimento no permitió observar diferencias entre tratamientos.

6.2. Porcentaje de hembras que repitieron estro

No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) en esta variable, ya que solo una borrega retornó a estro. Esto se debió posiblemente a que los animales tuvieron una adecuada nutrición (NRC, 1985), más que al efecto de la suplementación con vitamina E y Se, además de que el manejo reproductivo y el protocolo de inducción de estros, fue el adecuado. Lozano *et al.* (2003) mencionan que dietas bajas en energía durante la fase de desarrollo embrionario incrementan la producción *in vitro* de $\text{PGF}_{2\alpha}$ lo cual podría provocar luteolisis y como consecuencia provocar muerte embrionaria, lo que también traería como consecuencia, retorno a nuevos ciclos estrales por la incapacidad de mantener la gestación. La dieta que se proporcionó en la presente investigación contenía $2.3 \text{ Mcal kg día}^{-1}$ que es la energía indicada para ovejas de reemplazo (NRC, 1985). Como ya se mencionó, solo una oveja retornó a estro, por lo que la dieta jugó un papel muy importante para que la mayoría de los animales no retornaran a estro.

Evans *et al.* (1962) realizaron un trabajo con 35 ovejas en anestro estacional en el cual administraron de 50 mg de 6-metyl-17-acetoxypogesterona (MAP) diariamente durante 14 días, para evaluar su efecto sobre la inducción de estros en época de anestro estacional, encontrando que el 89.6 % de las ovejas retornaron a un nuevo ciclo estral. Estos resultados no concuerdan con el presente trabajo, ya que solo una oveja retornó a estro. Martínez (1999) comparó la precisión de cinco técnicas de campo para detectar la gestación en ovejas Pelibuey. El estudio se realizó en el estado de Guerrero. Diecinueve ovejas de uno a cuatro partos fueron sincronizadas con implantes reciclados de norgestomet

y servidas por monta controlada. Al momento de verificar el retorno a estro mediante un carnero vasectomizado, el 89.4% de las ovejas no retornaron, es decir solo 2 ovejas de las 19 si lo hicieron. Aunque el principal objetivo de esta investigación era saber cual técnica era la más apropiada para detectar la gestación, no se encontraron diferencias en el porcentaje de hembras que retornaron al estro, señalando que la razón por la que un porcentaje muy bajo de animales retornaran a un nuevo ciclo, se debió a que las condiciones nutricionales y sanitarias eran adecuadas. Hartley *et al.* (1960) concluyeron que la deficiencia de Se y vitamina E en los animales domésticos afecta directamente la fertilidad, ya que una deficiencia de esos antioxidantes contribuye a la pérdida de gestación por lo que la suplementación con Se en animales alimentados en praderas deficientes en este mineral mejora la eficiencia reproductiva, comparado con aquellos animales a los que no se suplementa con Se y vitamina E.

6.3. Porcentaje de hembras que quedaron gestantes

En esta variable no se encontraron diferencias entre tratamientos ($P>0.05$) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de gestación por cada tratamiento.

| Tratamiento | n | gestación (%) |
|-------------|-----|---------------|
| Testigo | 7/8 | 71 |
| Vit E | 8/8 | 62 |
| Se | 8/8 | 75 |
| Se y Vit E | 6/8 | 83 |

El alto porcentaje de gestación pudo deberse al manejo reproductivo (sincronización, detección a tiempo de celos, entre otros), así como al adecuado

manejo nutricional más que a la suplementación con vitamina E y Se, puesto que como ya se comentó, no se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos. Ortiz (1997) menciona que dietas altas en granos pueden provocar alteraciones subclínicas en el pH ruminal, lo cual se ha asociado con baja fertilidad. Un factor de riesgo en la pérdida de gestaciones tempranas es la acidosis ruminal, la hipótesis propuesta del mecanismo de este fenómeno es que la dieta alta en granos ocasiona acidosis y una elevación de endotoxinas libres, las cuales provocan liberación de prostaglandina $F_{2\alpha}$ y regresión del cuerpo lúteo. En este trabajo la relación forraje concentrado fue de (50:50) por lo que es improbable que las ovejas presentaran síntomas de acidosis. El inadecuado metabolismo energético está asociado con el retraso de la ovulación y con una disminución de las concentraciones séricas de P_4 , lo que potencialmente puede afectar negativamente la supervivencia embrionaria. Por otra parte, también puede afectar el desarrollo folicular y el potencial de los ovocitos para desarrollar embriones viables (Villa-Godoy *et al.*, 1988 y Butler, 2000).

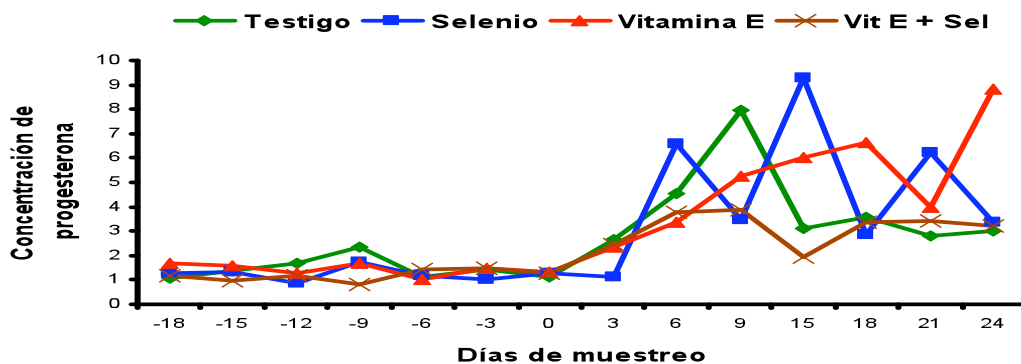
Rubianes *et al.* (1999), utilizando nueve días de tratamiento progestacional mas eCG, obtuvieron porcentajes de preñez de 75%. Estos autores indican que se debió al efecto inhibitorio de la prolactina, ya que altos niveles de prolactina en la oveja lactante en anestro, deprimen los impulsos de LH y es más difícil para ellas retornar a su actividad sexual, además de que deprimen la fertilidad. Sin embargo el efecto del progestágeno aunado a la actividad de eCG estimula a las gonadotropinas hipofisarias y con ello la cascada hormonal sexual. Greyling *et al.* (1990) obtuvieron 86% de fertilidad al utilizar un progestágeno en forma de implante de silicón (Chronogest) para inducir estros en condiciones de anestro, en los meses de marzo-abril. Ellos señalan que este porcentaje se obtuvo por la inducción de la producción de las hormonas FSH y LH en esta época y por ende la producción de estrógenos gracias a la formación de folículos funcionales. A diferencia de los anteriores trabajos, en el presente experimento se utilizaron esponjas impregnadas con FGA por 12 días así como 300 U.I. I.M. de Folligon[®], por lo tanto el adecuado protocolo de inducción de estros fue muy importante para obtener altos porcentajes de fertilidad. Yeager *et al.* (1999) mencionan que un

adecuado consumo de Se es importante para mejorar los índices de fertilidad en los animales respecto a animales que no tienen acceso a éste, o a los que no lo consumen adecuadamente. Sin embargo, los animales que se utilizaron en esta investigación y que fueron suplementados con Se tuvieron un consumo adecuado de este mineral, pero no se encontraron diferencias respecto a los animales que no fueron suplementados. Hartley, (1963) y Buchanan-Smith *et al.* (1969) concluyeron que en ovejas suplementadas con vitamina E y Se incrementan los porcentajes de preñez además de disminuir los índices de mortalidad embrionaria. Esto no concuerda con los resultados de este trabajo ya que como se ha mencionado, no hubo diferencias entre los animales suplementados con vitamina E y Se y el grupo testigo.

6.4. Cuantificación de P₄

No se encontraron diferencias en la concentración de P₄ en los siete primeros muestreos (P>0.05), pero si se encontraron en el muestreo 10. En este día el tratamiento testigo fue diferente al tratamiento con Se y al tratamiento con Se y vitamina E, al igual que en el muestreo 11 en que se observaron diferencias entre el tratamiento con Se y Se y vitamina E, y en el muestreo 14, el tratamiento con vitamina E fue diferente a los demás tratamientos (P<0.05) (Figura 3).

Figura 3. Concentración de progesterona (ng ml⁻¹).



* Día -18: aplicación de esponjas impregnadas con FGA (muestreo 1).

* Día 0: entrada a celo (muestreo 7).

* Día 24: diagnóstico de gestación (muestreo 14).

Como lo muestra la figura 3, las concentraciones de P_4 en general, fueron mas altas después del día 3 que es cuando el cuerpo lúteo estaba terminando su formación y secretando niveles de P_4 en forma creciente, conforme el cuerpo lúteo va madurando, ya que es necesario mantener la gestación en las ovejas (Bartlewski, 1999). Lozano *et al.* (2003) mencionan que niveles bajos de P_4 se pueden encontrar en la vena ipsilateral ovárica de ovejas con un consumo *ad libitum* de energía (mayor a sus requerimientos). Por lo tanto en animales que consumen más energía de la requerida, los niveles de esta hormona serán bajos y por lo tanto se afectará negativamente a los embriones durante las dos primeras semanas de vida. En la presente investigación, las ovejas consumieron la energía establecida por el NRC (1985) la cual es la indicada para ovejas de reemplazo ($2.3 \text{ Mcal kg día}^{-1}$), por lo que un consumo suficiente de energía permitió la adecuada producción de P_4 en la mayoría de los animales, ya que casi todas las ovejas quedaron gestantes.

Parr *et al.* (1987) llegaron a la conclusión de que tanto la sobrealimentación como la subalimentación pueden afectar negativamente la producción de P_4 , ya que se ha observado una disminución en la concentración de esta hormona a nivel de los órganos sexuales lo que se relaciona con muerte embrionaria temprana. Como ya se ha mencionado anteriormente, los animales consumieron durante todo el periodo experimental niveles adecuados de nutrientes (NRC, 1985) por lo que los niveles promedio de P_4 se comportaron de manera normal tanto antes como después de que los animales quedaran gestantes, es decir, niveles más elevados después de haber sido las ovejas montadas (por haber quedado la mayoría gestantes) y más bajos antes de que lo fueran (Hafez y Hafez, 2000).

Chihuailaf *et al.* (2002) mencionan que el uso de antioxidantes como lo son la vitamina E y Se evitan la oxidación de macromoléculas como los lípidos, por lo que al administrar a los animales estos antioxidantes se favorece que las hormonas esteroides no se oxiden (por lipoperoxidación) y puedan funcionar en la reproducción, ya que hormonas como la E_2 y P_4 tienen su origen en los lípidos, por consiguiente, se producirán para mantener una función reproductiva normal. En el este estudio, el mayor nivel de P_4 en el tratamiento testigo fue de 7.96 ± 2.10

ng ml⁻¹ y 9.31 ± 2.18 ng ml⁻¹ para el tratamiento con Se. 8.83 ± 2.35 ng ml⁻¹ para el tratamiento con vitamina E y 3.85 ± 0.87 ng ml⁻¹ para el tratamiento con Se y vitamina E (figura 3). Aunque el tratamiento con Se y vitamina E tuvo niveles más bajos de P₄ no hubo diferencias en las variables tiempo y porcentaje de presentación de estros, porcentaje de hembras que repitieron estro y porcentaje de hembras que quedaron gestantes, siendo los niveles producidos los adecuados para mantener la gestación.

Álvarez y Zarco (2001) realizaron un trabajo donde estimularon a cabras en época reproductiva con la presencia de machos, evaluando las concentraciones de P₄ sérica, determinando que el valor máximo de esta hormona fue de 2.5 ng ml⁻¹, encontrándose en esta investigación una producción de P₄ más eficiente en todos los tratamientos. Cuarenta y ocho horas después de haberse retirado las esponjas y aplicando Folligon[®], las ovejas fueron montadas por los machos y a partir de este momento se incrementó la P₄ en las ovejas (muestreos 8 al 14) debido al establecimiento de un cuerpo lúteo, el cual ya estaba en condiciones para secretar la hormona y mantener la gestación (Hafez y Hafez, 2000) alcanzándose los niveles máximos de 7.96 ± 2.10 ng ml⁻¹ en el grupo testigo; 9.31 ± 2.18 ng ml⁻¹ para el tratamiento con Se; 8.83 ± 2.35 ng ml⁻¹ para el tratamiento con vitamina E y 3.85 ± 0.87 ng ml⁻¹ para el tratamiento con Se y vitamina E (figura 3).

Molina *et al.* (2005) realizaron una investigación en época reproductiva en ovejas Dorset para determinar el efecto de la combinación de P₄ secretada por el cuerpo lúteo y un dispositivo que proporcionaba una fuente exógena de P₄ (CIDR-G) en las principales variables reproductivas. En su estudio, evaluaron la secreción de P₄ y observaron que en el grupo donde había presencia de cuerpo lúteo mas CIDR-G (PCL), se presentaron niveles mayores de P₄ en comparación con el grupo testigo (CIDR-G) y otro grupo con CIDR-G y sin la presencia de cuerpo lúteo (SPCL). Los valores máximos de P₄ a los 5 días de insertado el dispositivo, el cual permaneció por 12 días, fueron de 8.6 ng ml⁻¹ para PCL, 6.3 ng ml⁻¹ para el grupo testigo y 4.14 ng ml⁻¹ para el grupo SPCL. En comparación con la presente investigación, a la mitad del periodo de aplicadas las esponjas con

FGA, los valores máximos en la concentración de P_4 fueron de $1.67 \pm 0.15 \text{ ng ml}^{-1}$ para el grupo testigo; $0.88 \pm 0.24 \text{ ng ml}^{-1}$ para el tratamiento con Se; $1.26 \pm 0.12 \text{ ng ml}^{-1}$ para el tratamiento con vitamina E y $1.16 \pm 0.14 \text{ ng ml}^{-1}$ para el tratamiento con Se y vitamina E. También Molina *et al.* (2005), encontraron que los valores máximos al retiro de los dispositivos fue de 2.29 ng ml^{-1} para PCL, 2.44 ng ml^{-1} para el tratamiento testigo y 2.21 ng ml^{-1} para SPCL. En contraste con la presente investigación, los valores para el grupo testigo fueron de $1.43 \pm 0.08 \text{ ng ml}^{-1}$; $1.01 \pm 0.18 \text{ ng ml}^{-1}$ para el tratamiento con Se; $1.49 \pm 0.30 \text{ ng ml}^{-1}$ para el tratamiento con vitamina E y $1.46 \pm 0.04 \text{ ng ml}^{-1}$ para el tratamiento con Se y vitamina E (figura 3); lo que significa que no hubo un efecto de los tratamientos sobre la producción de P_4 antes del retiro de las esponjas con FGA, como lo podrían tener algunos dispositivos de liberación de P_4 .

Como lo muestra la figura 3, la tendencia en todos los tratamientos fue a incrementarse la concentración de P_4 a partir del día 3 (muestreo 8) así como también a presentar irregularidades en su concentración (no se observó la tendencia normal de meseta en las concentraciones de esta hormona) hasta el día 24 (muestreo 14). También se observó que el tratamiento con Se y vitamina E, aunque empezó a incrementarse en el día 3, no alcanzó concentraciones superiores a los 4 ng ml^{-1} .

6.5. Cuantificación de gammaglobulinas

En el tratamiento testigo, hubo un efecto significativo ($P < 0.05$) existiendo un incremento en la concentración de IgG's en el muestro 2 ($3.15 \pm 0.28 \text{ gr dl}^{-1}$) respecto al muestreo 1 ($2.75 \pm 0.28 \text{ gr dl}^{-1}$). En el tratamiento con vitamina E también se observó un incremento a través del tiempo ($P < 0.05$), iniciando en el primer muestreo con $2.72 \pm 0.12 \text{ gr dl}^{-1}$ para posteriormente incrementarse en los muestreos 2 ($2.87 \pm 0.24 \text{ gr dl}^{-1}$), 3 ($2.9 \pm 0.30 \text{ gr dl}^{-1}$) y 4 ($3.1 \pm 0.32 \text{ gr dl}^{-1}$). En los muestreos 2, 3 y 4 del tratamiento con vitamina E, se encontraron diferencias ($P < 0.05$) respecto al muestro 1 del tratamiento testigo. Sin embargo, del segundo al cuarto muestreo no hubo diferencias entre el tratamiento testigo y con vitamina

E (Cuadro 6). Estos resultados son diferentes al estudio realizado por Daniels *et al.*, (2000), quienes encontraron que ovejas desafiadas con el virus de parainfluenza tipo 3 tuvieron títulos mas elevados de IgG`s que ovejas suplementadas con 400 U.I. de vitamina E (α -tocoferol), en comparación con las no suplementadas.

Los resultados obtenidos en la presente investigación, pudieron deberse al número de animales por tratamiento (n=8) ya que todos los animales tuvieron el mismo manejo nutricional y sanitario. Los resultados de este trabajo tampoco coinciden con los encontrados por Hatfield *et al.* (2002) y Gentry *et al.* (1992), quienes mencionan que la vitamina E incrementa las IgG`s en los animales domésticos y en el hombre, ya que los resultados obtenidos muestran que el tratamiento al que se suplementó con esta vitamina mostró efectos similares al grupo testigo en la producción de gammaglobulinas. También se encontraron diferencias ($P<0.05$) en el muestro 1 (3.07 ± 0.17 gr dl⁻¹) del tratamiento con Se y vitamina E respecto al muestreo 2 ($2,87\pm 0.24$ gr dl⁻¹) del tratamiento con vitamina E. El tratamiento con Se en los 4 muestreos (3.3 ± 0.12 gr dl⁻¹, 4.4 ± 0.24 gr dl⁻¹, 4.27 ± 0.24 gr dl⁻¹ y 4.3 ± 0.12 gr dl⁻¹), presentó un mayor nivel de inmunoglobulinas al transcurrir el tiempo que el tratamiento con vitamina E ($P<0.05$) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Concentración de gammaglobulinas (gr dl⁻¹) por muestreo en cada uno de los muestreos.

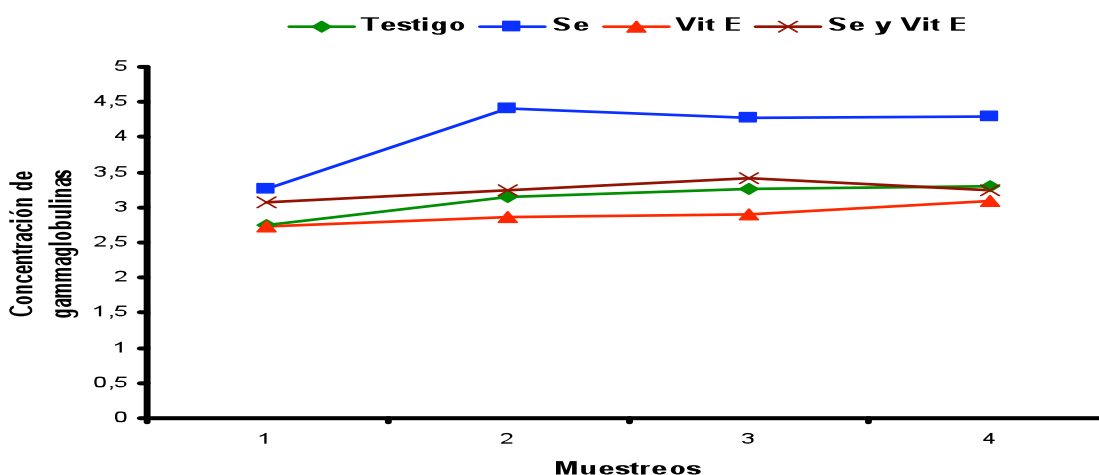
| Tratamiento | Muestreo | | | | EEM |
|-------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| Testigo | 2.75 ^{a,x} | 3.15 ^{b,y} | 3.27 ^{b,y} | 3.30 ^{b,y} | 0.13 |
| Vit E | 2.72 ^{a,y} | 2.87 ^{b,y} | 2.90 ^{b,y} | 3.10 ^{b,y} | 0.13 |
| Se | 3.30 ^{b,x} | 4.40 ^{a,x} | 4.27 ^{a,x} | 4.30 ^{a,x} | 0.16 |
| Se y vit E | 3.07 ^{b,x} | 3.25 ^{b,y} | 3.42 ^{b,y} | 3.25 ^{b,y} | 0.12 |
| EEM | 0.10 | 0.14 | 0.15 | 0.15 | |

a, b: valores con literales distintas en la misma columna significa que son valores diferentes ($P < 0.05$).

x, y: valores con literales distintas en la misma fila significa que son valores diferentes ($P < 0.05$).

Se observó que la suplementación con Se favorece la producción de gammaglobulinas, en comparación con la suplementación únicamente de vitamina E o la adición de Se y vitamina E. Cabe mencionar que se encontró una tendencia a aumentar las IgG's a través del tiempo, a excepción del tratamiento con Se y vitamina E, en que se observó una disminución de éstas en el muestreo 4 en relación al 3 (Figura 4). Welch *et al.* (1960) encontraron que la incorporación de Se (3 ppm) en dietas para ovejas incrementa la producción de IgG's, disminuyendo la aparición de distrofia muscular en los corderos. Estos autores explican que el Se es un cofactor de la glutatión peroxidasa, enzima que participa en los procesos de protección celular, su deficiencia produce la depresión de la respuesta inmune humoral y celular, comprobándose que los suplementos con Se tienen efecto inmunoestimulante.

Figura 4. Concentración de gammaglobulinas (gr dl^{-1}).



Entre las relaciones conocidas entre el Se y la función inmunológica se encuentran la mayor efectividad de las células fagocíticas al eliminar patógenos

(inmunidad no específica), aumento en los niveles de IgG's en el calostro (inmunidad humoral) y en la función de las células T (inmunidad celular). Varios estudios sugieren que la deficiencia de Se, se acompaña de una disminución en la actividad inmunológica y probablemente guarda relación con el hallazgo en condiciones normales, de cantidades significativas de Se en tejidos de relevancia inmunitaria como el bazo y los ganglios linfáticos. La deficiencia de Se puede afectar tanto a la inmunidad humoral como a la mediada por las células. La suplementación de este mineral en individuos con reservas normales tiene efectos inmunoestimulantes, incluyendo un aumento en la proliferación de linfocitos T activados. Este efecto parece relacionarse estrechamente con la capacidad del Se de regular positivamente la expresión de receptores de interleuquina-2 en la superficie de los linfocitos y en las células asesinas (NK) (Rayman, 2000).

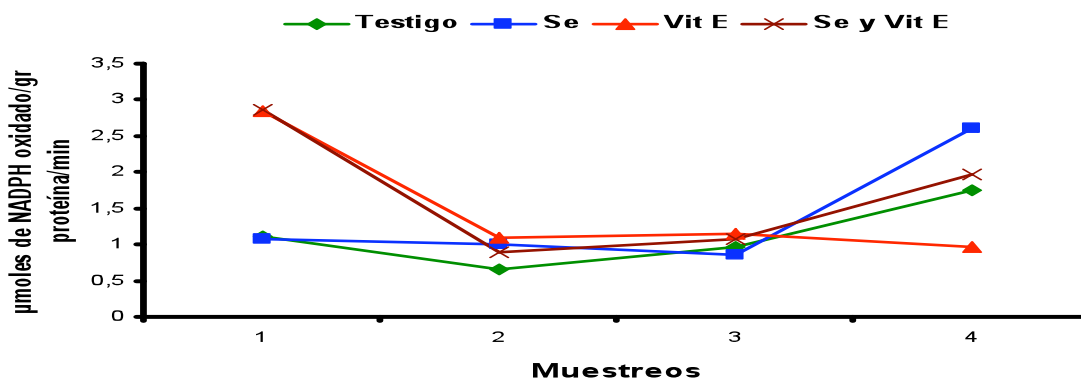
6.6. Medición de la actividad de GSH-Px

Se encontraron diferencias ($P < 0.05$) en el muestreo 1 (1.07 ± 0.09 $\mu\text{moles de NADPH oxidados mg}^{-1}$ de proteína min^{-1}) del tratamiento con Se respecto al muestro 2 (0.65 ± 0.30 $\mu\text{moles de NADPH oxidados mg}^{-1}$ de proteína min^{-1}) del tratamiento testigo y en el muestreo 1 (2.87 ± 0.57 $\mu\text{moles de NADPH oxidados mg}^{-1}$ de proteína min^{-1}) del tratamiento con Se y vitamina E respecto al muestro 2 (0.65 ± 0.30 $\mu\text{moles de NADPH oxidados mg}^{-1}$ de proteína min^{-1}) del tratamiento testigo (Cuadro 7). Solo existieron diferencias ($P < 0.05$) en los tratamientos que contenían Se (tratamientos Se y Se y vitamina E) respecto al tratamiento testigo, pero con el paso del tiempo no se observaron diferencias entre tratamientos. Como lo muestra la figura 5, los niveles de NADPH en el tratamiento con vitamina E y Se y vitamina E, en el primer muestreo fueron elevados, disminuyendo en el segundo y hasta el cuarto muestreo, sin que alcanzaran los niveles del primer muestreo, mientras que para el tratamiento testigo y el tratamiento con Se, que iniciaron con niveles bajos de IgG's presentaron un incremento en el cuarto muestreo.

Cuadro 7. Concentración de de NADPH ($\mu\text{moles de NADPH oxidados mg}^{-1}$ de proteína min^{-1}) en cada uno de los muestreos.

| Tratamiento | Muestreo | | | |
|-------------|----------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Testigo | 1.13 | 0.65 | 0.97 | 0.90 |
| Vit E | 1.63 | 1.10 | 1.15 | 0.98 |
| Se | 1.08 | 1.00 | 0.85 | 1.06 |
| Se y Vit E | 1.53 | 1.16 | 1.07 | 1.03 |
| EEM | 0.28 | 0.30 | 0.39 | 0.37 |

Figura 5. Concentración de NADPH ($\mu\text{moles de NADPH oxidados mg}^{-1}$ de proteína min^{-1}).



Zachara *et al.* (1992) evaluaron durante tres meses niveles de Se (selenato de bario) en corderos en el altiplano de Polonia para determinar el nivel óptimo de Se en la actividad de GSH-Px en eritrocitos, encontrando que la suplementación con 0.25 gr kg^{-1} de MS fue la óptima para dicha actividad. Los niveles de Se que se suplementaron en el presente estudio fueron similares a los niveles que ellos determinaron como óptimos para una adecuada función de GSH-Px, pero estadísticamente no hubo una diferencia entre los tratamientos que contenían Se con los que no los contenían (cuadro 7), lo que indica que posiblemente la

cantidad de unidades experimentales no fue suficiente para observar diferencias. Paynter *et al.* (1980), aseguran que la actividad de GSH-Px no se afecta por la edad de los animales, al menos en ovinos, bovinos y caballos, pero se puede afectar por desbalances nutricionales debido a dietas deficientes en Se, señalando que valores menores a 20 $\mu\text{moles de sangre oxidada min}^{-1} \text{ gr}^{-1}$ de hemoglobina se considera deficiente, y por el contrario, niveles de entre 50-550 de NADPH oxidado $\text{min}^{-1} \text{ gr}^{-1}$ de hemoglobina se considera adecuado. En la presente investigación, la actividad enzimática de GSH-Px se determinó en suero, obteniéndose el valor más alto en los tratamientos testigo y tratamiento con Se en el primer muestreo ($2.80 \pm 0.57 \mu\text{moles de NADPH oxidados mg}^{-1}$ de proteína min^{-1}) como lo muestra el cuadro 7, sin que se observara ningún signo clínico asociado con una baja actividad enzimática en ninguno de los cuatro tratamientos.

6.7. Cuantificación de selenio total en sangre

Los cuatro muestreos de los tratamientos con Se (139.25 ± 34.00 , 121.50 ± 6.00 , 119.25 ± 9.00 y 145.75 ± 8.00 ppb de Se) y los cuatro del tratamiento con Se y vitamina E (138.50 ± 36.00 , 134.50 ± 15.00 , 140.75 ± 25.00 y 133.00 ± 16.00 ppb de Se), son los que en general mostraron mayores valores a través del tiempo (cuadro 8).

Cuadro 8. Concentración de Se en sangre (ppb) en cada uno de los muestreos.

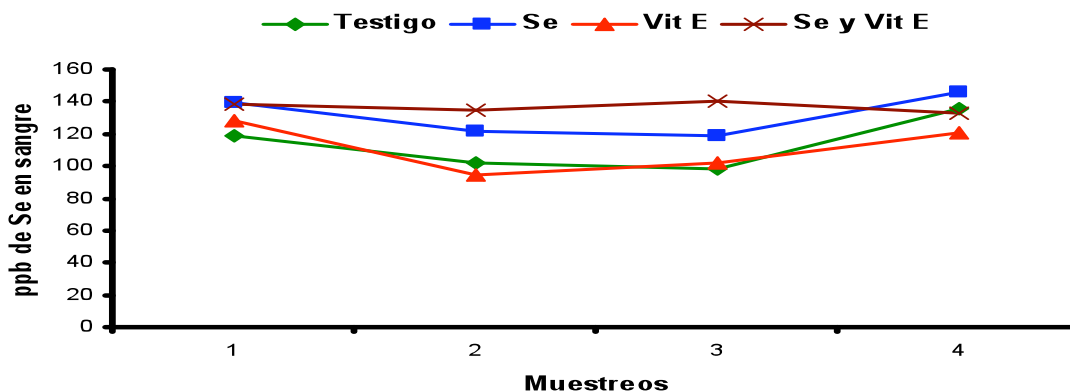
| Tratamiento | Muestreo | | | |
|-------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Testigo | 118.50±4.35 ^b | 102.00±8.83 ^b | 98.00±21.95 ^b | 135.25±19.85 ^b |
| Vit E | 128.25±28.07 ^b | 94.25±30.60 ^b | 101.70±18.39 ^b | 121.00±20.78 ^b |
| Se | 139.25±34.00 ^a | 121.50±6.00 ^a | 119.25±9.00 ^a | 145.75±8.00 ^a |
| Se y Vit E | 138.50±36.00 ^a | 134.50±15.00 ^a | 140.75±25.00 ^a | 133.00±16.00 ^a |

a,b: valores con literales distintas entre columnas significa que son diferentes (P<0.05).

Como lo muestra la figura 6, los valores de Se sanguíneo en los tratamientos testigo y con Se iniciaron con valores altos, disminuyendo en el segundo y tercer muestreo, incrementándose sus valores (respecto a los tres primeros muestreos) al final de la suplementación. En el tratamiento con vitamina E se observó una tendencia similar pero no se alcanzaron a recuperar los valores iniciales. También el tratamiento con Se y vitamina E presentó una tendencia a mantener sus valores dentro de los tres primeros muestreos pero al final de la suplementación, los valores disminuyeron.

Los resultados obtenidos indican que mientras los requerimientos de Se sean los adecuados, los niveles de este mineral en sangre estarán elevados sin tener efectos tóxicos.

Figura 6. Cuantificación de Se en sangre (ppb).



Zachara *et al.* (1992) suplementaron a cuatro grupos de corderos durante tres meses con varios niveles de Se en forma de selenito de bario (0.25, 0.41, 0.58 mg de Se kg⁻¹ de MS y un grupo testigo), concluyendo que la suplementación con 0.25 mg de Se kg⁻¹ de MS fue la mejor para mantener los niveles de Se dentro de los rangos normales en sangre y una adecuada actividad de GSH-Px en los corderos, además de promover la actividad antioxidante en el organismo. Aunque en este trabajo no se cuantificaron ROS y con ello la obtención de un perfil de la actividad oxidante, se cree que dicha actividad fue similar en los cuatro tratamientos puesto que no se observó ningún signo de trastorno metabólico o alguna otra enfermedad en las ovejas.

Langlands *et al.* (1988) administraron selenito de sodio vía oral y subcutánea a ovejas en pastoreo en varios estados de gestación y lactación (T1), mientras que otras ovejas (T2, también en varios estados de gestación y lactación) recibieron Se junto con Fe en forma peletizada, encontrando mayores cantidades de Se en sangre tanto en las ovejas como en sus crías en ambos grupos. Esto sugiere que la administración de Se vía oral podría ser una buena estrategia en algunas granjas con pocos animales para mantener los niveles de Se adecuados en ovejas así como en los corderos. En este trabajo, se suplementó el Se por vía oral, observándose que los tratamientos a los cuales se les suplementó dicho mineral (tratamiento Se y Se y vitamina E), presentaron niveles de Se más altos que los tratamientos que no fueron suplementados.

Gutiérrez *et al.* (2005) llevaron a cabo un experimento con 37 hembras gestantes primíparas de las razas Suffolk, Rambouillet y cruza (F1, Suffolk-Rambouillet) con el objetivo de determinar el porcentaje ideal de inclusión de Se en bolos ruminales. Los animales se asignaron a tres grupos en forma aleatoria. Al primer grupo se le administraron bolos con 0% de Se, al segundo bolos con 5% y al tercero bolos con 10%. Las ovejas se mantuvieron en praderas mixtas bajo un sistema de pastoreo rotacional además se les suministró 100 g de paja de avena por animal (<50 ppb de Se) y alimento balanceado (concentrado con 95.6 ppb de Se), hecho con sorgo y soya en cantidades aproximadas a los 250 g por animal (valores de <50 ppb son deficientes y de 100 a 75 son moderados). A este alimento se le agregaron sales minerales libres de Se. Se verificó quincenalmente la concentración de Se, tanto en pastos como en paja de avena y concentrado. Las sales minerales libres de selenio se suministraron a los animales 15 días antes (periodo de adaptación) del inicio de la aplicación de los comprimidos. Estos investigadores encontraron que en los animales a los que se les proporcionó bolos con 0, 5 y 10%, la concentración de Se fue mayor de 100 ppb en todos los casos (103.99, 148.49 y 158.48 ppb, respectivamente), siendo los bolos que contenían 5 y 10% más efectivos ($P < 0.05$) para mantener los niveles de este mineral dentro de los rangos requeridos en sangre.

En la presente investigación se encontraron resultados similares tanto en el tratamiento con Se (140 ± 34 , 125 ± 6 , 122 ± 9 y 150 ± 8 ppb de Se) como con Se y vitamina E (141 ± 36 , 138 ± 15 , 142 ± 25 y 131 ± 16 ppb de Se), mientras que los resultados obtenidos por Gutiérrez *et al.* (2005) con bolos de 0% de Se fueron similares en los muestreos 2 y 3 del tratamiento testigo (102 ± 4 y 96 ± 8 ppb de Se, respectivamente) y en el muestreo 2 del tratamiento con vitamina E (93 ± 5 ppb de Se, cuadro 9). Tanto en este trabajo como en el de Gutiérrez *et al.* (2005), se encontraron niveles de Se en sangre que están dentro de los rangos considerados adecuados tanto en el grupo testigo como a los que se suplementó Se.

7. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se llevó a cabo esta investigación, no se observaron diferencias entre tratamientos en las variables reproductivas, sin embargo en la medición de P_4 , cuantificación de gammaglobulinas, actividad enzimática de GSH-Px y Se total en sangre si hubo diferencias entre tratamientos, encontrándose diferencias en el tratamiento con Se y Se y vitamina E, ya que en la cuantificación de P_4 , cuantificación de gammaglobulinas y Se total en sangre el tratamiento con Se fue superior a los demás, en tanto que en la medición de la actividad enzimática de GSH-Px el tratamiento con Se y vitamina E fue el mejor, aunque esto no se reflejara en una mejor función reproductiva de las ovejas.

8. RECOMENDACIONES

Se recomienda utilizar una mayor cantidad de animales para evaluar los efectos de la suplementación de Se y vitamina E en las variables reproductivas. También probar varios niveles de Se y vitamina E y determinar cuales son los óptimos para mejorar la función reproductiva en anestro estacional.

9. LITERATURA CITADA

Alvárez, L., Q. Zarco. 2001. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Vet. Mex.* 2 :117-129.

Arthur, J.R., C. Roderick, G.J. Beckett. 2003. Selenium in the immune system. *J. Nutr.* 133:1457–1459.

AOAC, 1990. Official methods of análisis. The Association of Official Analytical Chemists. 15th. Ed. Washington , DC.

Asociación Mexicana de Criadores de Ovinos (AMCO). 2005. Ovinos y caprinos: Ganadería del futuro. [en línea] disponible en: <http://www.asmexcriadoresdeovinos.org/>. [septiembre 10 de 2006].

Bandyopadhyay, U., D. Das, R.K. Banerjee. 1999. Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis (Review). *Curr. Sci.*77:658-666.

Barrett, S. 2005. Antioxidants and other phytochemicals: Current Scientific Perspective. [en línea]. Disponible en: <http://www.Antioxidants and other phytochemicals.ht> [diciembre 21 de 2006].

Bartlewski, P.M., A.P. Beard, C. Rawlings. 1999. An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology* 52: 115-130.

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.

Biewenga, G., B.A. Heanen. 1997. The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *Gen. Pharmacol.* 29:315-331.

Boland, T.M., N. Keane, P. Nowakowski, P.O. Brophy, T.F. Crosby. 2005. High mineral and vitamin E intake by pregnant ewes lowers colostral immunoglobulin G absorption by the lamb. *J. Anim. Sci.* 83:871–878.

Boon, P., P.J. Soon. 2004. Carotenoid action on the immune response. *J. Nutr.* 134:257S–261S.

Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram of protein. *Ann. Biol Chem.* 72:248-254.

Buchanan-Smith, J.G., E.C.Nelson, B.I. Osburn, M.E. Wells, A.D. Tillman. 1969. Effects of vitamin E and selenium deficiencies in sheep fed a purified diet during growth and reproduction. *J. Anim. Sci.* 29:808-815.

Butler, W.R. 1998. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81:2533-2539.

Chaudière, J., R. Ferrari-Iliou. 1999. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol.* 37:949-962.

Cheeseman, K.H., T.F. Slater. 1993. An introduction to free radical biochemistry. In: Cheeseman KH, Slater TF (Eds.). *Free Radicals in Medicine*. Churchill Livingstone. London, UK. pp. 81-493.

Chihuailaf, R., P.A. Contreras., F.G. Wittwer. 2002. Patogénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal. Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile. [en línea] disponible en: <http://www.scielo-mx.bvs.br/scielo.php?pid=S030150922002000300006&script> [septiembre 24 de 2006].

Church, D.C., W.G. Pond, K.R. Pond. 2002. *Fundamentos de nutrición y alimentación de animales*. 2a. ed. pp. 253.

Cline, M.A., J.N. Ralston, R.C. Seals, G.S. Lewis. 2001. Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chorionic gonadotropin or P.G. 600 to estrus and ovulation in ewes. *J. Anim. Sci.* 79:589–594.

Daniels, J.T., P.G. Hatfield., D.E. Burgess., R.W. Kott., J.G.P. Bowman. 2000. Evaluation of ewe and lamb immune response when ewes were supplemented with vitamin E. *J. Anim. Sci.* 78:2731–2736.

Davis, P.A., L.R. McDowell., N.S. Wilkinson., C.D. Buergelt., R. Van Alstyne., R.N. Weldon., and T.T. Marshall. 2006. Tolerance of inorganic selenium by range-type ewes during gestation and lactation. 2006. *J. Anim. Sci.* 84:660–668.

Dawson, L. 2005. Generalidades de la reproducción en la cabra. *Memorias*. 1er ciclo de conferencias la producción caprina en Nuevo León. pp. 9.

Dutt, R. H. 1953. Induction of estrus and ovulation in anestrual ewes by use of progesterone and pregnant mare serum. *J. Anim. Sci.* 12:515–523.

Evans, J.S., R.H. Dutt, E.C. Simpson. 1962. Breeding performance in ewes after synchronizing estrus by feeding 6-methyl-17-acetoxypregesterone. *J. Anim Sci.* 21:804-808.

Flohe, L., W. Gunzler. 1984. Assays of glutathione peroxidase. *Meth. Enzymol.* 105:114–121.

Fukui, Y., D. Ishikawa, N. Ishida, R. Itagaki, T. Ogosi. 1999. Comparison of fertility of estrous synchronized ewes with four different intravaginal devices during the breeding season. *J. Reprod. Dev.* 45:337-343.

Galina, C., J. Valencia. 2006. Reproducción de animales domésticos. 2ª ed. Ed. Limusa. México.

García, E. 1988. Los climas del valle de México. Serie de sobretiros No. 6. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 34 p.

Garvey, J.S., N.E. Cremer, D.H. Sussdorf. 1977. Methods in immunology: Chapter 13 Electrophoresis in cellulose acetate. The Benjamin/Cummings Publishing Company. Readings Mass. pp. 97-100.

Gentry, P.C., T.T. Ross, B.C. Oetting, K.D. Birch. 1992. Effects of supplemental D-alpha tocopherol on pre-weaning lamb performance, serum and colostrum tocopherol levels and IgG titers. *Sheep Goat Res. J.* 8:95-100.

Georgievskii, V.I., B.N. Annenkov, V.T. Samokhin. 1982. Mineral Nutrition of Animals. Studies in the Agricultural and Food Science. Butterworths, London. pp.353.

Giménez, J.R. 1993. Radicales libres y antioxidantes en clínica humana. Ed. IDEPSA, Madrid. pp. 30-42.

Goff, J.P., R.L. Horst, F.J. Müller, J.K. Miller, G.A. Kiess, H.H. Doblen. 1991. Addition of chloride to a prepartum diet high in cations increases 1, 25-dihydroxy vitamin D response to hypocalcemia preventing milk fever. *J. Dairy Sci.* 74:3863-3871.

Greyling, J.P.C., J.A. Erasmus, G.J. Taylor, S. Van der Merwe. 1990. Synchronization of estrus in sheep using progestagen and inseminating with chilled semen during the breeding season. *Small Rum. Res.* 26:137-143.

Gutiérrez, O.C., S.S. Kurt, M. Rosiles, W. Ducoing, H. Ortiz. 2005, Selenio sanguíneo y fecal en ovinos a partir de comprimidos inorgánicos intrarruminales. *Vet. Méx.* 36: 313-324.

Hafez, E.S.E., B. Hafez. 2000. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7ª ed. Ed. McGraw-Hill Interamericana.

Halliwell, B. 1987. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J.* 1:358-364.

Halliwell, B., J.M.C. Gutteridge., C.E. Cross. 1992. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? *J. Lab. Clin. Med.* 119:598-620.

Halliwell, B., S. Chirico. 1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *Am. J. Clin. Nutr.* 57(Suppl):715-725.

Halliwell, B. 1994. Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutr. Rev.* 52: 253-265.

Halliwell, B. 1997. Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutr Rev.* 55:44-52.

Halliwell, B., Gutteridge J.M.C. 1999. Free radicals in biology and medicine. 3rd. ed. Oxford University Press. Oxford. RU. 936 pp.

Harrison, J.H., H.R. Conrad. 1984. Effect of dairy calcium on selenium absorption by the nonlactating dairy cow. *J. Dairy Sci.* 67:1860-1864.

Hartley, W.J., A.B. Grant., C. Drake. 1960. White muscle disease and barrenness in ewes. *N.Z. J. Agric.* 101, 343-352.

Hartley, W.J., A.B.A Grant. 1961. Review of selenium responsive diseases of New Zealand livestock. *Fed. Proc.* 20, 679-688.

Hartley, W.J. Selenium and ewe fertility. 1963. *Proc. New Zealand Soc. Anim. Prod.* 23:20-27.

Hatfield, D.L., V.N. Gladyshev. 2002. How selenium has altered our understanding of the genetic code. *Mol. Cell. Biol.* 22:565–3576.

Hatfield, P.G., 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.

Hillestrom, P.R., M.I. Covas, H.E. Poulsen. 2006. Effect of dietary virgin olive oil on urinary excretion of etheno-DNA adducts. *Free Radic. Biol. Med.* 41(7):1133-1138.

Izquierdo, A.G., R. Lang, J. Oaxaca, J.F. Pérez, y T. Dadi. 1999. Inducción y sincronización de celos en ovejas criollas anéstricas estacionales con esponjas vaginales impregnadas en FGA y PMSG inyectable. *Arch. Zootec.* 48: 437-440.

Jurišić, S., V. Knežević, Z. Kalodjera, J. Grgić. 2003. Determination of selenium in teucrium species by hydride generation atomic absorption Spectrometría. *Z. Naturforsch.* 58c:43-145.

Kehrer, J.P. 1993. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit. Rev. Toxicol.* 23:21-48.

Knights, M.T., P.E. Hoehn, E.K. Inskeep. 2001. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrus ewes. *J. Anim. Sci.* 79:1120–1131.

Kryukov, G.V, V.N. Gladyshev. 2002. Mammalian selenoprotein gene signature: identification and functional analysis of selenoprotein genes using bioinformatic methods. *Methods Enzymol.* 347:84-100.

Kubow, S. 1993. Lipid oxidation products in food and atherogenesis. *Nutr Rev.* 51:33-40.

Lacetera, N., U. Bernabucci., B. Ronchi., A. Nardone. 1996. Effects of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrum and milk production in dairy cows, and on passive immunity and growth of their offspring. *Am. J. Vet. Res.* 57:1776-1780.

Langlands, J.P., G.E. Donald., J.E. Bowles., A.J. Smith. 1990. Selenium supplements for grazing sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 28:1-13.

Lawrence, R.A., R.F. Burk. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71(4):952-958.

Lescure, A., D. Gautheret, A. Krol. 2002. Novel selenoproteins identified from genomic sequence data. In: *Methods in Enzymology*. Sies, H. and Packer, L. (Eds.), pp. 57–70.

Lozano, J.M., P. Lonergan, M.P. Boland, D. O'Callaghan. 2003. Influence of nutrition on the effectiveness of superovulation programmes in ewes: effect on oocyte quality and post-fertilization development. *Reproduction* 125:543–553.

Maas, J. 1990. Selenium deficiency in cattle. In: *Proceeding XVI World Buiatrics Congress, Salvador, Brasil*, pp. 3-13.

Machado-Neto, R., C.N. Graves, S.E. Curtis. 1987. Immunoglobulins in piglets from sows heat-stressed prepartum. *J. Anim Sci.* 65:445–455.

Machlin, L.J., A. Bendich. 1987. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.* 1:441-445.

Martínez, R.D. 1999. Comparación de cinco técnicas de campo para detectar preñez en ovejas pelibuey. *Vet. Méx;* 30(2):193-198.

Matill, H.A. 1947. Antioxidants. *Ann. Rev. Biochem.* 16: 177-192.

Maurel, M.C., F. Roy, V. Herve, J. Bertin, D. Vaiman, E. Crihiu, E. Manfredi, F. Bouvier, I. Lantier, P. Boue, F. Guillou. 2003. Reponse immunitaire a la eCG utilisee dans le traitement de l'induction d'ovulation chez la chevre et la brebis. *Gynecologie Obstetrique and Fertilité* 31:766–769.

McDonald, P., R. Edwards, J.F.D. Greenhalgh. 1993. *Nutrición Animal*. 4^a. ed. Ed. Acribia. pp. 76-77.

McDowell, L.R. 1985. *Nutrition of Grazing Ruminants in Warm Climates*. Animal Feeding and Nutrition Academic Press Inc. pp. 259-287.

McDowell, L.R. 1997. *Minerals for grazing ruminants in tropical regions*. 3rd ed. Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida.. pp 35.

McKenzie, R.C., J.R. Arthur, G.J. Beckett. 2002. Selenium and the regulation of cell signaling, growth, and survival: molecular and mechanistic aspects. *Antioxid. Redox Signal.* 4:339–351.

Miller, J.K., E. Brzezinska-Slebodzinska, F.C. Madsen. 1993. Oxidative Stress, antioxidants and animal function. *J. Dairy Sci.* 76:2812-2823.

Miller, S., S.W. Walker., J.R. Arthur., F. Nicol., K. Pickard., M.H. Lewin., A.F. Howie., and G.J. Beckett. 2001. Selenite protects human endothelial cells from oxidative damage and induces thioredoxin reductase. *Clin. Sci.* 100: 543–550.

Mohammed, H.O., M.E. White, C.L. Guard, M.C. Smith, G.D. Mechoa, C.W. Booker, L.D. Warnick, J.J. Dascanio, D.G. Kennev. 1991. A case-control study of the association between blood selenium and cystic ovaries in lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 74:218-2185

Molina, M.P., M.T. Sánchez, E. García, G. Martínez, L. Cárdenas, O. Peralta., M. Cordero., E. Hizarza., M.E. Ortega. 2005. Manipulación de la presencia del cuerpo lúteo en la sincronización de estros en ovejas Dorset. *Agrociencia* 39:11-18.

Morrisey, P.A., N.M. O'Brien. 1998. Dietary antioxidants in health and disease. *Int. Dairy J.* 8:463-472.

Nantz, M.P., C.A. Rowe, C. Nieves, S.S. Percival. 2006. Immunity and antioxidant capacity in humans is enhanced by consumption of a dried, encapsulated fruit and vegetable juice concentrate. *J. Nutr.* 136(10):2606-2610.

Nockels, C.F. 1986. Nutrient modulation of the immune system. In: W. Haresign and D. J. A. Cole (Eds.) *Recent Advances in Animal Nutrition*. pp. 177–192.

NRC. 1985. *Nutrient Requirements of Sheep* (6th Ed.). National Academy Press, Washington, DC.

O'Doherty, J.V., T.F. Crosby. 1997. The effect of diet in late pregnancy on colostrum production and immunoglobulin absorption in sheep. *Anim. Sci.* 64:87–96.

Ordoñez, R.J.A., O.V. Velasquez, M.R. Rosiles. 1990. Niveles de Se, Cu, Co en suelos y forrajes y su importancia sobre los problemas de deficiencia en corderos alimentados bajo condiciones de pastoreo en San Felipe del Progreso, Estado de México. In: *Memorias del III Congreso Nacional de Producción Ovina*. Tlaxcala, Mex., pp. 92-95.

Ortiz, O. 1997. Análisis de sobrevivencia y serología prospectiva en el estudio de abortos. *Memorias del Séptimo Curso Internacional de Reproducción Bovina*. 1997 mayo 19–22; México (DF): Academia de Investigación en Biología de la Reproducción AC. pp. 29-42.

Parr, R.A., I.F. Davis, R.J. Fairclough, M.A. Miles. 1987. Overfeeding during early pregnancy reduces peripheral progesterone concentration and pregnancy rate in sheep. *J. Reprod. Fertility* 80 317–320.

Paynter, D.I., C.G. Halpin, I.W. Caple. 1980. Measurement of blood glutathione peroxidase activity for assessment of selenium nutrition in livestock. In: *Manual of Standard Diagnostic Techniques*. Animal Health Committee, Australia.

Pesti, G.M., B.R. Miller. 1993. Animal feed formulation, economics and computer applications. *An. AVI Book*. Van Nostrand Reinhold. Georgia. USA. pp. 320

Pesutic, D., V. Leyan., G. Schurig., F. Wittwer., P. Contreras., J. Kruze., R. Matamoros. 2001. Efectos de una dieta selenio-deficiente sobre la respuesta inmune a la vacuna RB51 en vaquillas a pastoreo. *V Jornadas Chilenas de Buiatría*. Puerto Varas-Chile. pp. 141-142.

Porter, P. 1969. Transfer of immunoglobulins IgG, IgA and IgM to lacteal secretions in the parturient sow and their absorption by the neonatal piglet. *Biochem. Biophys. Acta.* 181:381–392.

Quigley, J.D., P. French, R.E. James. 2000. Short communication: Effect of pH on absorption of immunoglobulin G in neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 83:1853–1855.

Rayman, M.P. 2000. The Importance of Selenium to Human Health. Centre for Nutrition and Food Safety, School of Biological Sciences, University of Surrey, Guildford, United Kingdom. pp. 233-241.

Rejnek, J., L. Prokesova, J. Sterzl, V. Matousek. 1973. The presence of IgG and IgM in full term horse umbilical cord sera. *Immunochem.* 10:397–399.

Rock, M.J. 2001. Effects on prenatal source and level of dietary selenium on passive immunity and thermometabolism of newborn lambs. *Small Rum. Res.* 40: 129-138.

Rosemary, H.N. 1990. Selenium. In: *Heavy metals in soils*. Alloway, B.J. (Ed). Blackie, Glasgow and London. pp: 237-260.

Rubianes, E., R. Ungerfeld., T. De Castro. 1999. Inducción y sincronización de celo en ovejas y cabras. III Simposio Internacional de Reproducción Animal, Montevideo, Uruguay. pp. 109-131.

SAGARPA. (2003) Ganadería para niños. Última actualización 2006. [en línea] disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderito/>. [septiembre 10 de 2006].

Sánchez, J., P. Montes., A. Jiménez., S. Andrés. 2007. Prevention of clinical mastitis with barium selenate in dairy goats from a selenium-deficient area. *J. Dairy Sci.* 90:2350-2354.

Sanson, R. L. 1990. Selenium supplementation of sheep by topdressing pastures under high rainfall conditions. *Vet. J.* 38:1-3.

Sarabia, M. 2004. Desarrollo de un bolo intrarruminal de liberación prolongada con selenio orgánico de levaduras para bovinos productores de leche. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias. Departamento de QFB. FES-Cuautitlán. UNAM.

SAS. 1999-2000. Version 8 for Windows edition. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.

Schultz, R.D., H.W. Dunne, C.E. Heist. 1973. Ontogeny of bovine immune response. *Infect. Immunol.* 7:981-991.

Segerson, E.C., G. Riviere, T.R. Bullock, S. Thimaya, S.N. Ganapathy. 1980. Uterine contractions and electrical activity in ewes treated with selenium and vitamin E. *Biology Reprod.* 23:1020-1028.

Segerson, E.C., S.N. Ganapathy. 1980. Fertilization of ova in selenium/vitamin E-treated ewes maintained on two planes of nutrition. *J. Anim. Sci.* 51:386-394.

Shimada, A. 2003. *Nutrición Animal*. Ed. Trillas. pp 285.

Slater, T.F. 1984. Free-radical mechanism in tissue injury. *Biochem. J.* 222:1-15.

Smith, W.D., A.M. Dawson, P.W. Wells, C. Berrels. 1975. Immunoglobulin concentration in ovine body fluids. *Res. Vet. Sci.* 19:189-194.

Spallholz, J.E., J.L. Martin, M.L. Gerlach, R.H. Heinzerling. 1973. Immunologic responses of mice fed diets supplemented with selenite selenium. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 143:685-689.

Surai, P.F. 2007. *Selenium in nutrition and health*. Nottingham University Press. U.K. 974 pp.

Swecker, W., C. Thatcher, D. Eversole, D. Blodgett, D. Schurig. 1995. Effect of selenium supplementation on colostral IgG concentration in cows grazing selenium-deficient pastures and on postsuckle serum IgG concentration in their calves. *Am. J. Vet. Res.* 56: 450-453.

Toyokuni, S. 1999. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol. Int.* 49:91–102.

Turner, R.J., J.M. Finch. 1991. Selenium and the immune response. *Proc. Nutr. Soc.* 50:275–285.

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.

Villa-Godoy, A., T.L. Hughes, R.S. Emery, L.T. Chapin, R.L. Fogwell. 1998. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 71:1063-1072.

Vinoles, C., M. Forsberg, G. Banchero, E. Rubianes. 2001. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, 55:993–1004.

Vipond, J.E. 1984. Effects of a single oral dose of a commercial selenium cobalt and vitamin preparation on ewe fertility. *Vet. Rec.* 114:519-521.

Wang, J.Y., L.L. Wen, Y.N. Huang, Y.T. Chen M.C. Ku. 2006. Dual effects of antioxidants in neurodegeneration: direct neuroprotection against oxidative stress and indirect protection via suppression of glia-mediated inflammation. *Curr. Pharm Des.* 12(27):3521-3533.

Welch, G., W.G. Hoekstra, A.L. Pope, and P.H. Phillips. 1960. Effects of feeding fish liver oil, vitamin E and selenium to ewes upon the occurrence of muscular dystrophy in their lambs: *Anim Sci.* 19:620-628

Wichtel, J.J. 1998. A review of selenium deficiency in grazing ruminants. Part 1: new roles for selenium in ruminant metabolism. *N. Z. Vet. J.* 46:47–52.

Wildeus, S. 1999. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. Agricultural Research Station, Virginia State University, Petersburg 23806. pag 1-14.

Wolf, G. 2005. The discovery of the antioxidant function of vitamin E. *J Nutr* 135 (3):363-36.

Wu, S.H., J.E. Oldfield, P.D. Whanger, P.H. Weswig. 1973. Effect of selenium, vitamin E, and antioxidants on testicular function in rats¹2. *Biol. Reprod.* 8:625-629..

Yaeger, M.J., D. Regg, L. Holler, L. Tammy, J. David, S. Palmer. 1999. The effect of subclinical selenium toxicosis on pregnant beef cattle. *J Vet Diag. Invest.* 10:268-273.

Yu, B.P. 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol. Rev.* 74:139-162.

Zachara, B.A., U. Trafikowska., H. Labedzka., and J. Mikolajczak. 1993. Effect of dietary Se intake on blood Se levels and glutathione peroxidase activities in lambs. *Small Ruminant Res.* 9:331-340.

10. ANEXOS

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

| Muestreo 1 | | | Muestreo 2 | | |
|-------------------|-------------|------------------------|-------------------|-------------|------------------------|
| Animal | Tratamiento | NADPH oxidado (μmoles) | Animal | Tratamiento | NADPH oxidado (μmoles) |
| 63 | Testigo | 1.5 | 63 | Testigo | 0.9 |
| 9 | Testigo | 1.2 | 9 | Testigo | 0.8 |
| 79 | Testigo | 0.7 | 79 | Testigo | 0.2 |
| 72 | Testigo | 1.1 | 72 | Testigo | 0.7 |
| 52 | Vit E | 0.5 | 52 | Vit E | 1.6 |
| 7 | Vit E | 2.0 | 7 | Vit E | 1.2 |
| 84 | Vit E | 2.4 | 84 | Vit E | 1.3 |
| 34 | Vit E | 6.5 | 34 | Vit E | 0.3 |
| 35 | Se | 1.0 | 35 | Se | 0.5 |
| 13 | Se | 1.0 | 13 | Se | 2.1 |
| 85 | Se | 1.2 | 85 | Se | 0.7 |
| 55 | Se | 1.1 | 55 | Se | 0.7 |
| 17 | Se y vit E | 1.4 | 17 | Se y vit E | 1.6 |
| 38 | Se y vit E | 2.1 | 38 | Se y vit E | 0.3 |
| 39 | Se y vit E | 1.1 | 39 | Se y vit E | 1.6 |
| 58 | Se y vit E | 6.9 | 58 | Se y vit E | 0.1 |
| Muestreo 3 | | | Muestreo 4 | | |
| Animal | Tratamiento | NADPH oxidado (μmoles) | Animal | Tratamiento | NADPH oxidado (μmoles) |
| 63 | Testigo | 0.4 | 63 | Testigo | 1.3 |
| 9 | Testigo | 0.7 | 9 | Testigo | 0.1 |
| 79 | Testigo | 2.1 | 79 | Testigo | 1.3 |
| 72 | Testigo | 0.7 | 72 | Testigo | 4.3 |
| 52 | Vit E | 3.1 | 52 | Vit E | 1.1 |
| 7 | Vit E | 0.3 | 7 | Vit E | 0.7 |
| 84 | Vit E | 0.5 | 84 | Vit E | 0.2 |
| 34 | Vit E | 0.7 | 34 | Vit E | 1.9 |
| 35 | Se | 0.5 | 35 | Se | 4.2 |
| 13 | Se | 0.8 | 13 | Se | 0.0 |
| 85 | Se | 1.2 | 85 | Se | 6.0 |
| 55 | Se | 0.9 | 55 | Se | 0.2 |
| 17 | Se y vit E | 1.1 | 17 | Se y vit E | 1.1 |
| 38 | Se y vit E | 1.5 | 38 | Se y vit E | 1.1 |
| 39 | Se y vit E | 0.7 | 39 | Se y vit E | 4.8 |
| 58 | Se y vit E | 1.0 | 58 | Se y vit E | 0.9 |

2. Datos individuales de Se en sangre.

| Muestreo 1 | | | Muestreo 2 | | |
|-------------------|-------------|-----|-------------------|-------------|-----|
| Animal | Tratamiento | ppb | Animal | Tratamiento | ppb |
| 63 | Testigo | 125 | 63 | Testigo | 92 |
| 9 | Testigo | 117 | 9 | Testigo | 104 |
| 79 | Testigo | 116 | 79 | Testigo | 99 |
| 72 | Testigo | 116 | 72 | Testigo | 113 |
| 52 | Vit E | 102 | 52 | Vit E | 99 |
| 7 | Vit E | 151 | 7 | Vit E | 109 |
| 84 | Vit E | 154 | 84 | Vit E | 119 |
| 34 | Vit E | 106 | 34 | Vit E | 50 |
| 35 | Se | 127 | 35 | Se | 125 |
| 13 | Se | 100 | 13 | Se | 125 |
| 85 | Se | 216 | 85 | Se | 112 |
| 55 | Se | 114 | 55 | Se | 124 |
| 17 | Se y vit E | 184 | 17 | Se y vit E | 152 |
| 38 | Se y vit E | 103 | 38 | Se y vit E | 115 |
| 39 | Se y vit E | 116 | 39 | Se y vit E | 131 |
| 58 | Se y vit E | 151 | 58 | Se y vit E | 140 |
| Muestreo 3 | | | Muestreo 4 | | |
| Animal | Tratamiento | ppb | Animal | Tratamiento | ppb |
| 63 | Testigo | 114 | 63 | Testigo | 126 |
| 9 | Testigo | 116 | 9 | Testigo | 126 |
| 79 | Testigo | 93 | 79 | Testigo | 124 |
| 72 | Testigo | 69 | 72 | Testigo | 165 |
| 52 | Vit E | 76 | 52 | Vit E | 138 |
| 7 | Vit E | 109 | 7 | Vit E | 86 |
| 84 | Vit E | 103 | 84 | Vit E | 149 |
| 34 | Vit E | 119 | 34 | Vit E | 111 |
| 35 | Se | 107 | 35 | Se | 145 |
| 13 | Se | 125 | 13 | Se | 157 |
| 85 | Se | 127 | 85 | Se | 145 |
| 55 | Se | 118 | 55 | Se | 136 |
| 17 | Se y vit E | 174 | 17 | Se y vit E | 158 |
| 38 | Se y vit E | 124 | 38 | Se y vit E | 123 |
| 39 | Se y vit E | 119 | 39 | Se y vit E | 126 |
| 58 | Se y vit E | 146 | 58 | Se y vit E | 125 |

3. Datos individuales de gammaglobulinas séricas.

| Muestreo 1 | | | Muestreo 2 | | |
|-------------------|-------------|--------------------|-------------------|-------------|--------------------|
| Animal | Tratamiento | frac.Gamma (gr/dl) | Animal | Tratamiento | frac.Gamma (gr/dl) |
| 63 | Testigo | 1.8 | 63 | Testigo | 1.5 |
| 9 | Testigo | 2.1 | 9 | Testigo | 2.5 |
| 79 | Testigo | 1.4 | 79 | Testigo | 1.6 |
| 72 | Testigo | 1.7 | 72 | Testigo | 1.7 |
| 52 | Vit E | 2.1 | 52 | Vit E | 2.3 |
| 7 | Vit E | 1.9 | 7 | Vit E | 2.1 |
| 84 | Vit E | 1.8 | 84 | Vit E | 1.8 |
| 34 | Vit E | 2 | 34 | Vit E | 1.8 |
| 35 | Se | 1.6 | 35 | Se | 2.3 |
| 13 | Se | 1.9 | 13 | Se | 1.9 |
| 85 | Se | 1.7 | 85 | Se | 2 |
| 55 | Se | 1.7 | 55 | Se | 1.7 |
| 17 | Se y vit E | 2.0 | 17 | Se y vit E | 1.7 |
| 38 | Se y vit E | 1.9 | 38 | Se y vit E | 2.1 |
| 39 | Se y vit E | 1.7 | 39 | Se y vit E | 2.0 |
| 58 | Se y vit E | 2.0 | 58 | Se y vit E | 1.8 |
| Muestreo 3 | | | Muestreo 4 | | |
| Animal | Tratamiento | frac.Gamma (gr/dl) | Animal | Tratamiento | frac.Gamma (gr/dl) |
| 63 | Testigo | 1.8 | 63 | Testigo | 1.8 |
| 9 | Testigo | 2.1 | 9 | Testigo | 1.9 |
| 79 | Testigo | 1.9 | 79 | Testigo | 1.5 |
| 72 | Testigo | 2.0 | 72 | Testigo | 2.4 |
| 52 | Vit E | 1.7 | 52 | Vit E | 1.4 |
| 7 | Vit E | 1.5 | 7 | Vit E | 1.9 |
| 84 | Vit E | 2.2 | 84 | Vit E | 2.1 |
| 34 | Vit E | 2.0 | 34 | Vit E | 2.1 |
| 35 | Se | 1.5 | 35 | Se | 1.8 |
| 13 | Se | 1.8 | 13 | Se | 1.9 |
| 85 | Se | 2.1 | 85 | Se | 1.6 |
| 55 | Se | 1.7 | 55 | Se | 1.7 |
| 17 | Se y vit E | 1.9 | 17 | Se y vit E | 1.4 |
| 38 | Se y vit E | 2.2 | 38 | Se y vit E | 1.9 |
| 39 | Se y vit E | 2.2 | 39 | Se y vit E | 1.7 |
| 58 | Se y vit E | 1.1 | 58 | Se y vit E | 2.3 |

4. Datos individuales de P₄.

| Tratamiento | Animal | Fecha | Muestreo | Día | nmol/L | ng/ml |
|-------------|--------|------------|----------|-----|--------|--------|
| 1 | 79 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 3,7 | 1,1618 |
| 1 | 79 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 6,7 | 2,1038 |
| 1 | 79 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 6,3 | 1,9782 |
| 1 | 79 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 8 | 2,512 |
| 1 | 79 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 5,3 | 1,6642 |
| 1 | 79 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 5,6 | 1,7584 |
| 1 | 79 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 1,7 | 0,5338 |
| 1 | 79 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 9,4 | 2,9516 |
| 1 | 79 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 9,5 | 2,983 |
| 1 | 79 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 8,7 | 2,7318 |
| 1 | 79 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 4 | 1,256 |
| 1 | 79 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 6 | 1,884 |
| 1 | 79 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 4,6 | 1,4444 |
| 1 | 79 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 6,5 | 2,041 |
| 1 | 9 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 1,4 | 0,4396 |
| 1 | 9 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 7,1 | 2,2294 |
| 1 | 9 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 7,9 | 2,4806 |
| 1 | 9 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 8,8 | 2,7632 |
| 1 | 9 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 4,1 | 1,2874 |
| 1 | 9 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 7,8 | 2,4492 |
| 1 | 9 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 7,5 | 2,355 |
| 1 | 9 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 14,9 | 4,6786 |
| 1 | 9 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 24,9 | 7,8186 |
| 1 | 9 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 21,5 | 6,751 |
| 1 | 9 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 6,7 | 2,1038 |
| 1 | 9 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 9,7 | 3,0458 |
| 1 | 9 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 9,3 | 2,9202 |
| 1 | 9 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 7,2 | 2,2608 |
| 1 | 72 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 1,3 | 0,4082 |
| 1 | 72 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 1,6 | 0,5024 |
| 1 | 72 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 1,7 | 0,5338 |
| 1 | 72 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 1,1 | 0,3454 |
| 1 | 72 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 2,1 | 0,6594 |
| 1 | 72 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 1,6 | 0,5024 |
| 1 | 72 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 4 | 1,256 |
| 1 | 72 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 5,9 | 1,8526 |
| 1 | 72 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 19,6 | 6,1544 |
| 1 | 72 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 56 | 17,584 |
| 1 | 72 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 17,1 | 5,3694 |
| 1 | 72 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 21 | 6,594 |
| 1 | 72 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 12,1 | 3,7994 |
| 1 | 72 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 17,3 | 5,4322 |

| Tratamiento | Animal | Fecha | Muestreo | Día | nmol/L | ng/ml |
|-------------|--------|------------|----------|-----|--------|--------|
| 1 | 63 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 7,1 | 2,2294 |
| 1 | 63 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 1,9 | 0,5966 |
| 1 | 63 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 5,5 | 1,727 |
| 1 | 63 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 11,7 | 3,6738 |
| 1 | 63 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 2,5 | 0,785 |
| 1 | 63 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 3,3 | 1,0362 |
| 1 | 63 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 1,4 | 0,4396 |
| 1 | 63 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 3,6 | 1,1304 |
| 1 | 63 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 3,8 | 1,1932 |
| 1 | 63 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 15,3 | 4,8042 |
| 1 | 63 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 12 | 3,768 |
| 1 | 63 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 8,9 | 2,7946 |
| 1 | 63 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 9,5 | 2,983 |
| 1 | 63 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 7,3 | 2,2922 |
| Tratamiento | Animal | Fecha | Muestreo | Día | nmol/L | ng/ml |
| 2 | 7 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 6,2 | 1,9468 |
| 2 | 7 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 6,7 | 2,1038 |
| 2 | 7 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 8,6 | 2,7004 |
| 2 | 7 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 8,8 | 2,7632 |
| 2 | 7 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 5,8 | 1,8212 |
| 2 | 7 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 9,7 | 3,0458 |
| 2 | 7 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 2 | 0,628 |
| 2 | 7 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 9,7 | 3,0458 |
| 2 | 7 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 13,4 | 4,2076 |
| 2 | 7 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 26,4 | 8,2896 |
| 2 | 7 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 26,6 | 8,3524 |
| 2 | 7 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 29 | 9,106 |
| 2 | 7 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 9 | 2,826 |
| 2 | 7 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 46 | 14,444 |
| 2 | 52 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 4,9 | 1,5386 |
| 2 | 52 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 2,6 | 0,8164 |
| 2 | 52 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 1,3 | 0,4082 |
| 2 | 52 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 1,4 | 0,4396 |
| 2 | 52 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 4,1 | 1,2874 |
| 2 | 52 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 6,5 | 2,041 |
| 2 | 52 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 1,2 | 0,3768 |
| 2 | 52 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 5,8 | 1,8212 |
| 2 | 52 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 16,3 | 5,1182 |
| 2 | 52 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 18,7 | 5,8718 |
| 2 | 52 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 26,6 | 8,3524 |
| 2 | 52 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 27,6 | 8,6664 |
| 2 | 52 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 11,6 | 3,6424 |
| 2 | 52 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 55 | 17,27 |

| Tratamiento | Animal | Fecha | Muestreo | Día | nmol/L | ng/ml |
|-------------|--------|------------|----------|-----|--------|--------|
| 2 | 84 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 5,2 | 1,6328 |
| 2 | 84 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 7,3 | 2,2922 |
| 2 | 84 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 2,3 | 0,7222 |
| 2 | 84 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 3,9 | 1,2246 |
| 2 | 84 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 1,8 | 0,5652 |
| 2 | 84 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 1,1 | 0,3454 |
| 2 | 84 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 9,5 | 2,983 |
| 2 | 84 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 13,3 | 4,1762 |
| 2 | 84 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 3,7 | 1,1618 |
| 2 | 84 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 14 | 4,396 |
| 2 | 84 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 13,7 | 4,3018 |
| 2 | 84 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 18,7 | 5,8718 |
| 2 | 84 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 20,7 | 6,4998 |
| 2 | 84 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 5,6 | 1,7584 |
| 2 | 34 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 5 | 1,57 |
| 2 | 34 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 3,3 | 1,0362 |
| 2 | 34 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 3,9 | 1,2246 |
| 2 | 34 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 7,5 | 2,355 |
| 2 | 34 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 1,6 | 0,5024 |
| 2 | 34 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 1,7 | 0,5338 |
| 2 | 34 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 4,3 | 1,3502 |
| 2 | 34 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 1,2 | 0,3768 |
| 2 | 34 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 9,6 | 3,0144 |
| 2 | 34 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 7,9 | 2,4806 |
| 2 | 34 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 9,6 | 3,0144 |
| 2 | 34 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 9,2 | 2,8888 |
| 2 | 34 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 9,7 | 3,0458 |
| 2 | 34 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 5,9 | 1,8526 |
| Tratamiento | Animal | Fecha | Muestreo | Día | nmol/L | ng/ml |
| 3 | 55 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 6,7 | 2,1038 |
| 3 | 55 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 6,3 | 1,9782 |
| 3 | 55 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 4,1 | 1,2874 |
| 3 | 55 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 8,2 | 2,5748 |
| 3 | 55 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 7,5 | 2,355 |
| 3 | 55 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 6,3 | 1,9782 |
| 3 | 55 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 4,7 | 1,4758 |
| 3 | 55 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 1,1 | 0,3454 |
| 3 | 55 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 22,3 | 7,0022 |
| 3 | 55 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 9,7 | 3,0458 |
| 3 | 55 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 19,9 | 6,2486 |
| 3 | 55 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 11,9 | 3,7366 |
| 3 | 55 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 7,5 | 2,355 |
| 3 | 55 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 7,5 | 2,355 |

| Tratamiento | Animal | Fecha | Muestreo | Día | nmol/L | ng/ml |
|-------------|--------|------------|----------|-----|--------|--------|
| 3 | 35 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 1 | 0,314 |
| 3 | 35 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 2,5 | 0,785 |
| 3 | 35 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 1,6 | 0,5024 |
| 3 | 35 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 2 | 0,628 |
| 3 | 35 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 3 | 0,942 |
| 3 | 35 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 3,5 | 1,099 |
| 3 | 35 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 1,4 | 0,4396 |
| 3 | 35 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 1,1 | 0,3454 |
| 3 | 35 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 1,5 | 0,471 |
| 3 | 35 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 5 | 1,57 |
| 3 | 35 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 9,1 | 2,8574 |
| 3 | 35 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 5,1 | 1,6014 |
| 3 | 35 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 8,6 | 2,7004 |
| 3 | 35 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 8 | 2,512 |
| 3 | 85 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 4,7 | 1,4758 |
| 3 | 85 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 6,4 | 2,0096 |
| 3 | 85 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 4,4 | 1,3816 |
| 3 | 85 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 3,5 | 1,099 |
| 3 | 85 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 1,5 | 0,471 |
| 3 | 85 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 1 | 0,314 |
| 3 | 85 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 8 | 2,512 |
| 3 | 85 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 8,8 | 2,7632 |
| 3 | 85 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 39 | 12,246 |
| 3 | 85 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 8,1 | 2,5434 |
| 3 | 85 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 84 | 26,376 |
| 3 | 85 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 16 | 5,024 |
| 3 | 85 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 55 | 17,27 |
| 3 | 85 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 8,6 | 2,7004 |
| 3 | 13 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 3,7 | 1,1618 |
| 3 | 13 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 1,4 | 0,4396 |
| 3 | 13 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 1,2 | 0,3768 |
| 3 | 13 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 8,4 | 2,6376 |
| 3 | 13 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 3,2 | 1,0048 |
| 3 | 13 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 2,1 | 0,6594 |
| 3 | 13 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 2,1 | 0,6594 |
| 3 | 13 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 3,2 | 1,0048 |
| 3 | 13 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 21,3 | 6,6882 |
| 3 | 13 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 21,1 | 6,6254 |
| 3 | 13 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 5,6 | 1,7584 |
| 3 | 13 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 3,4 | 1,0676 |
| 3 | 13 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 8,1 | 2,5434 |
| 3 | 13 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 18,7 | 5,8718 |

| Tratamiento | Animal | Fecha | Muestreo | Día | nmol/L | ng/ml |
|-------------|--------|------------|----------|-----|--------|--------|
| 4 | 39 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 5,9 | 1,8526 |
| 4 | 39 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 1,7 | 0,5338 |
| 4 | 39 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 2,3 | 0,7222 |
| 4 | 39 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 1 | 0,314 |
| 4 | 39 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 1,3 | 0,4082 |
| 4 | 39 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 6,5 | 2,041 |
| 4 | 39 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 5,7 | 1,7898 |
| 4 | 39 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 9,5 | 2,983 |
| 4 | 39 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 7,2 | 2,2608 |
| 4 | 39 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 24,7 | 7,7558 |
| 4 | 39 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 1,1 | 0,3454 |
| 4 | 39 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 7,1 | 2,2294 |
| 4 | 39 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 6,1 | 1,9154 |
| 4 | 39 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 6 | 1,884 |
| 4 | 38 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 3,8 | 1,1932 |
| 4 | 38 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 2,1 | 0,6594 |
| 4 | 38 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 3,9 | 1,2246 |
| 4 | 38 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 1,1 | 0,3454 |
| 4 | 38 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 4 | 1,256 |
| 4 | 38 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 1,7 | 0,5338 |
| 4 | 38 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 1,4 | 0,4396 |
| 4 | 38 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 8 | 2,512 |
| 4 | 38 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 25 | 7,85 |
| 4 | 38 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 7,7 | 2,4178 |
| 4 | 38 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 6,3 | 1,9782 |
| 4 | 38 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 9,4 | 2,9516 |
| 4 | 38 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 4,4 | 1,3816 |
| 4 | 38 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 11,7 | 3,6738 |
| 4 | 17 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 3,4 | 1,0676 |
| 4 | 17 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 1,5 | 0,471 |
| 4 | 17 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 3,9 | 1,2246 |
| 4 | 17 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 3,1 | 0,9734 |
| 4 | 17 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 1,4 | 0,4396 |
| 4 | 17 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 2,8 | 0,8792 |
| 4 | 17 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 1,9 | 0,5966 |
| 4 | 17 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 5,3 | 1,6642 |
| 4 | 17 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 6 | 1,884 |
| 4 | 17 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 8,7 | 2,7318 |
| 4 | 17 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 9,6 | 3,0144 |
| 4 | 17 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 16 | 5,024 |
| 4 | 17 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 3,4 | 1,0676 |
| 4 | 17 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 7,1 | 2,2294 |

| Tratamiento | Animal | Fecha | Muestreo | Día | nmol/L | ng/ml |
|-------------|--------|------------|----------|-----|--------|--------|
| 4 | 58 | 18/02/2007 | 1 | -18 | 1,6 | 0,5024 |
| 4 | 58 | 20/02/2007 | 2 | -15 | 7,1 | 2,2294 |
| 4 | 58 | 26/02/2007 | 3 | -12 | 4,8 | 1,5072 |
| 4 | 58 | 02/03/2007 | 4 | -9 | 5,5 | 1,727 |
| 4 | 58 | 04/03/2007 | 5 | -6 | 11,7 | 3,6738 |
| 4 | 58 | 06/03/2007 | 6 | -3 | 7,7 | 2,4178 |
| 4 | 58 | 08/03/2007 | 7 | 0 | 7,1 | 2,2294 |
| 4 | 58 | 10/03/2007 | 8 | 3 | 8,3 | 2,6062 |
| 4 | 58 | 14/03/2007 | 9 | 6 | 9,9 | 3,1086 |
| 4 | 58 | 18/03/2007 | 10 | 9 | 8 | 2,512 |
| 4 | 58 | 22/03/2007 | 11 | 15 | 7,8 | 2,4492 |
| 4 | 58 | 26/03/2007 | 12 | 18 | 10,1 | 3,1714 |
| 4 | 58 | 30/03/2007 | 13 | 21 | 29,6 | 9,2944 |
| 4 | 58 | 03/04/2007 | 14 | 24 | 16 | 5,024 |

| Animal | RAZA | PVI | Tratamiento | Horas celo |
|---------------|-------------|------------|--------------------|-------------------|
| 63 | s | 53,6 | testigo | 26 |
| 79 | c | 44,1 | testigo | 25 |
| 72 | c | 37,1 | testigo | 26 |
| 9 | c | 45 | testigo | 24 |
| | | | | |
| 34 | s | 48 | vitamina e | 24 |
| 84 | s | 57,3 | vitamina e | 25 |
| 7 | d | 61 | vitamina e | 26 |
| 52 | c | 36,1 | vitamina e | 26 |
| | | | | |
| 13 | d | 47,1 | selenio | 26 |
| 35 | s | 45,5 | selenio | 23 |
| 85 | c | 66,1 | selenio | 25 |
| 55 | s | 38,1 | selenio | 24 |
| | | | | |
| 17 | c | 56,3 | vit e + sel | 24 |
| 58 | c | 71 | vit e + sel | 26 |
| 39 | d | 51,4 | vit e + sel | 26 |
| 38 | c | 37,3 | vit e + sel | 24 |

BORREGAS GESTANTES
 El Dx de gestación fue el día
 11/04/07

T1
TESTIGO

| | | |
|-----|------|---|
| 26H | 43,5 | D |
| 63H | 38,5 | S |
| 9H | 37,5 | C |
| 23H | 29 | D |
| 79H | 30,5 | C |
| 78H | 29 | C |
| 72H | 31,5 | C |
| 21H | 42,5 | C |

T3
SEL

| | | |
|-----|------|---|
| 49H | 42 | S |
| 13H | 37,5 | D |
| 81H | 30,5 | C |
| 35H | 39 | S |
| 60H | 35 | C |
| 85H | 39,5 | C |
| 80H | 27,5 | C |
| 55H | 29,5 | S |

T2
VIT E

| | | |
|-----|------|---|
| 83H | 40,5 | S |
| 29H | 38 | C |
| 34H | 38,5 | S |
| 84H | 39,5 | S |
| 74H | 28,5 | D |
| 70H | 27,5 | C |
| 7H | 45,5 | D |
| 52H | 31,5 | C |

T4
**VIT E +
 SEL**

| | | |
|------|------|---|
| REME | 36 | C |
| 75H | 40 | S |
| 17H | 42,5 | C |
| 58H | 43,5 | C |
| 53H | 33,5 | C |
| 56H | 32,5 | D |
| 39H | 29,5 | D |
| 38H | 28 | C |

 VACIAS