



# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

## **MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y SALUD ANIMAL**

**Cinética del selenio en vacas lecheras del trópico a partir de bolos  
intra-ruminales con selenito de sodio**

# **T E S I S**

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN  
CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y SALUD ANIMAL**

**P R E S E N T A**

**VÍCTOR HUGO BUSTO SÁNCHEZ**

**TUTOR: RENÉ ROSILES MARTÍNEZ**

**COMITÉ TUTORAL:  
JORGE LUIS TÓRTORA PÉREZ  
MAXIMINO HUERTA BRAVO**

**MÉXICO, D.F.**

**2007**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIAS

A mi familia: José Luís, Gloria, Luís, Julieta, Edith, Mariana, Aldo y Fernando, por todo el apoyo que he recibido de ustedes desde que yo recuerdo. Gracias por creer en mí y estar conmigo siempre.

Al Doctor René Rosiles, no solo por todo lo que he aprendido de usted, sino por su gran calidad como ser humano, siempre le estaré agradecido.

A Karla: no hay palabras para agradecerle el haberme acompañado en los momentos difíciles y por no dejarme dar por vencido.

A mis amigos de los tiempos inmemoriales: Ana, Sybyl, Adrián, Jacobo, José, Renato, por acompañarme tanto en los ratos de "sano esparcimiento" como en los momentos en que más necesite ser escuchado y tener a mí lado personas como ustedes. Gran parte de este trabajo es gracias a ustedes.

A Teresa, Jesús, Alonso, Manuel, compañeros de la carrera que se convirtieron en amigos y con los cuales comparto muy buenos recuerdos.

A Ángeles: No solo te agradezco por ayudarme con mis muestreos en Martínez, sino por convertirte en una gran amiga.

A Janitzio por ayudarme a despejar las dudas existenciales por las que pase durante estos 3 años.

A Erika: gracias por el tiempo que compartimos y por mostrarme que el mundo puede seguir siendo maravilloso

A Peggy, Dolly y Ramona, este trabajo es para ustedes.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi respetable jurado: MVZ Joel Hernández, IAZ Maximino Huerta, MVZ Arturo Olguín, MVZ René Rosiles y MVZ Jorge Tórtora. Las aportaciones y comentarios de ustedes, permitieron mejorar y enriquecer el presente trabajo. Muchas gracias por su tiempo y dedicación.

Al MVZ Héctor Basurto, por su gran apoyo para que la fase de experimentación se pudiera llevar a cabo. Muchas gracias por recibirme sin conocerme.

Al laboratorio de toxicología de la FMVZ en especial a los laboratoristas Sra. Aurelia Cruz, Jaime Ballinas, MVZ Guadalupe Ramírez y MVZ Juan Horta, por su ayuda en la preparación de las muestras de laboratorio y por compartir conmigo un poco de su experiencia.

A todos aquellos con los que he convivido durante la maestría: Ana, Analía, David, Erika Valeria, Gabriela, Julián, Rafael, Raúl y a quienes por Alzheimer juvenil omita. Gracias por hacerla, más amena y enriquecerme como persona por el simple hecho de conocerlos.

## **CINÉTICA DEL SELENIO EN VACAS LECHERAS DEL TRÓPICO A PARTIR DE BOLOS INTRA-RUMINALES CON SELENITO DE SODIO**

### **RESUMEN**

En el presente trabajo, se fabricaron bolos intra-ruminales de 10 gramos con adhesivos para la construcción y selenito de sodio cuanto baste para llegar al 0, 5 y 10% de selenio los cuales se administraron a 3 grupos de vacas (n=5) . Para evaluar la liberación del selenio este se midió en sangre completa, leche y heces de vacas lecheras del trópico durante su ciclo productivo en los días 0, 5, 15, 30, 60, 120, 180 y 240 del experimento. También se evaluaron sus efectos en días abiertos, involución uterina y actividad ovárica. La identificación de la respuesta por grupo se realizó por medio de la concentración de selenio en sangre, heces y leche y se midió con generación hidruros acoplado a un espectrómetro de absorción atómica bajo las condiciones de operación señaladas en el manual de operación del fabricante. Los parámetros reproductivos se identificaron por medio de ultrasonografía. La respuesta del contenido de selenio en las vacas, determinó un alza del contenido de selenio en sangre completa los días 15, 30, 60, 120 para el grupo con el 10% de selenio ( $P < 0.005$ ); comparativamente estos valores estuvieron por debajo de los usados como referencia (80 a 180 ng/g<sup>3</sup> ó 100 ng/g). La respuesta de la concentración de selenio en leche, solamente se observó en el día 15 y en forma comparativa fue mayor en el grupo con bolos que contenían el 10% de selenio. Bajo las condiciones del presente no se encontraron diferencias significativas en la producción láctea o los parámetros reproductivos.

**Palabras clave:** Selenio, Selenito de sodio, bolos, intra-ruminales, Vacas.

## **SELENIUM CINETIC IN TROPIC DAIRY COWS FROM INTRA-RUMINAL BOLUSES WITH SODIUM SELENITE**

### **ABSTRACT**

In this work, were made intra-ruminal boluses with 10 grams from construction adhesives and sodium selenite all that is enough for 0, 5 and 10% selenium and were given to 3 cow groups (n=5). To evaluate selenium release this was measured in complete blood, milk and feces in tropical dairy cows on productive cycle on experiment days 0, 5, 10, 30, 60, 120, 180 and 240. Open days, uterine involution and ovaric activity were also evaluated. Group response was identified reading selenium concentration in blood, milk and feces and read with hydride generation atomic absorption spectrometry under owner's manual manufacturer conditions. Reproductive parameters were identified with ultrasonography. Selenium answer in cows, determined a peak in complete blood content on days 15, 30, 60 and 120 to 10% selenium group ( $P < 0.005$ ); comparatively this values were under reference values (80 to 180 ng/g) or 100 ng/g). Milk answer was only on 15 day and comparatively was higher in 10% selenium group. Under presente work conditions there were no significant differences in milk yield and productive parameters.

**Key words:** Selenium, Sodium selenite, boluses, intra-ruminals, Cows.

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIAS.....	I
AGRADECIMIENTOS .....	II
RESUMEN .....	III
ABSTRACT .....	IV
ÍNDICE GENERAL .....	IV
ÍNDICE DE CUADROS.....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
1 INTRODUCCIÓN .....	1
2 ANTECEDENTES.....	2
2.1 Selenio .....	2
2.2 Ciclo del selenio.....	4
2.3 Selenio en el ganado lechero.....	5
2.4 Funciones del selenio .....	7
2.5 Selenoproteínas .....	8
2.6 Requerimientos de selenio .....	13
2.7 Formas de suplementación de Selenio.....	13
2.8 Bolos intra-ruminales .....	14
2.9 Deficiencia de selenio .....	14
2.10 Determinación de niveles de selenio en el ganado .....	16
3 HIPÓTESIS.....	18
4 OBJETIVOS .....	18
5 MATERIAL Y MÉTODOS.....	19

5.1 Fase I. Prueba <i>in vitro</i> para evaluar la intensidad de liberación del selenio a partir de los bolos.....	19
5.2 Fase II. Desarrollo experimental <i>in vivo</i> .....	21
5.3 Determinación de la involución uterina y actividad ovárica posparto .	23
5.4 Determinación del reinicio de la actividad ovárica .....	23
5.5 Determinación de los días abiertos.....	23
5.6 Diseños estadístico .....	23
6 RESULTADOS .....	25
6.1 Selenio en el alimento .....	26
6.2 Selenio en sangre .....	26
6.3 Selenio en heces.....	28
6.4 Selenio en leche.....	30
6.5 Producción leche .....	31
6.6 Selenio en la reproducción .....	32
7 DISCUSIÓN.....	33
7.1 Selenio en el alimento .....	33
7.2 Selenio sanguíneo .....	34
7.3 Selenio fecal.....	35
7.4 Selenio lácteo.....	36
7.5 Selenio y producción láctea.....	37
7.6 Comparación por grupos .....	37
7.7 Selenio en la reproducción .....	38
8 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	39
9 LITERATURA CONSULTADA .....	40



## ÍNDICE DE CUADROS

<b>CUADRO 1: Selenoproteínas en mamíferos y sus funciones .....</b>	<b>53</b>
<b>CUADRO 2: Liberación de selenio (ng/bolo) in vitro a partir de bolos con distintas mezclas de adhesivos de la construcción .....</b>	<b>53</b>
<b>CUADRO 3: Segundo ensayo de liberación <i>in vitro</i> de selenio (ng/bolo) de las mezclas 5, 6 y 7 .....</b>	<b>53</b>
<b>CUADRO 4: Elementos minerales (<math>\mu\text{g/g}</math>) en la mezcla de adhesivos de la construcción (mezcla 7) utilizada para la fabricación de bolos ruminales</b>	<b>53</b>
<b>CUADRO 5: Valores de selenio en sangre completa de vacas del trópico en pastoreo.....</b>	<b>53</b>
<b>CUADRO 6: Concentraciones de selenio (ng/g) en sangre completa de vacas del trópico mexicano .....</b>	<b>53</b>
<b>CUADRO 7: Concentraciones de selenio (ng/g) en heces de vacas del trópico mexicano .....</b>	<b>53</b>
<b>CUADRO 8: Concentraciones de selenio (ng/g) en leche de vacas del trópico mexicano .....</b>	<b>60</b>
<b>CUADRO 9: Producción de leche en vacas del trópico mexicano .....</b>	<b>61</b>
<b>CUADRO 10: Parámetros reproductivos de vacas lecheras del trópico suplementadas con selenio a partir de bolos intra-ruminales.....</b>	<b>62</b>
<b>CUADRO 11: Valores de selenio (ng/g) en leches de vacas .....</b>	<b>63</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1: Liberación de selenio in vitro a partir de bolos con diferentes adhesivos de la construcción.....</b>	<b>65</b>
<b>FIGURA 2: Concentración de selenio por gramo de sangre en vacas lecheras del trópico suplementadas con bolos intra-ruminales .....</b>	<b>66</b>
<b>FIGURA 3: Concentración de selenio por gramo de heces en vacas lecheras del trópico suplementadas con bolos intra-ruminales. ....</b>	<b>67</b>
<b>FIGURA 4: Concentración de selenio por gramo de leche en vacas lecheras del trópico suplementadas con bolos intra-ruminales. ....</b>	<b>68</b>
<b>FIGURA 5: Producción láctea en vacas lecheras del trópico suplementadas con bolos intra-ruminales. ....</b>	<b>69</b>
<b>FIGURA 6: Concentraciones de selenio en sangre, heces y leche, en vacas que recibieron el bolo al 0%.....</b>	<b>70</b>
<b>FIGURA 7: Concentraciones de selenio en sangre, heces y leche, en vacas que recibieron el bolo al 5%.....</b>	<b>71</b>
<b>FIGURA 8: Concentraciones de selenio en sangre, heces y leche, en vacas que recibieron el bolo al 10%.....</b>	<b>72</b>

# **CINÉTICA DEL SELENIO EN VACAS LECHERAS DEL TRÓPICO A PARTIR DE BOLOS INTRA-RUMINALES CON SELENITO DE SODIO**

## **1 INTRODUCCIÓN**

Es común que la nutrición del ganado lechero se centre en los valores de energía y proteína, los cuales tienen un impacto directo en la producción láctea. Mientras que la suplementación de los elementos minerales pocas veces es considerada en la producción, especialmente en el ganado productor de leche. La variación en la concentración de los elementos minerales no tiene un impacto inmediato o un cambio en la producción animal, pero a la larga repercute en pérdidas para el productor. La cantidad necesaria de un elemento mineral, es dependiente de la demanda por la productividad en que se encuentra el animal, la especie, la raza, el sexo, la edad y la variación individual entre otros factores <sup>1, 2, 3</sup>. Aunado a esto, en los últimos años con la introducción de razas y el uso de procedimientos de selección genética más sofisticados, la productividad del ganado se ha visto incrementada enormemente. Este potencial de crecimiento mejorado de los becerros y la productividad de las hembras incrementan sus requerimientos nutricionales, sin que los elementos minerales hayan sido modificados para ajustarse al potencial de producción del ganado <sup>4</sup>.

La deficiencia de algún elemento mineral que repercute en una mala función metabólica dentro del organismo, implica que este es esencial y la deficiencia debe corregirse o evitarse <sup>5</sup>. Las deficiencias de elementos minerales son comunes en los rumiantes, especialmente en aquellos que se encuentran en condiciones de pastoreo, con acceso solo a pastos <sup>6</sup>. Cuando las deficiencias son graves pueden ser reconocidas fácilmente, aunque las deficiencias marginales son más frecuentes, las cuales son menos identificadas, pero aun así tienen un impacto económico. Estas deficiencias frecuentemente se ven exacerbadas por las interacciones entre los elementos minerales o son confundidas con variaciones en los niveles de energía y proteína. Las demandas individuales de los tejidos del animal varían durante toda la vida. Los

requerimientos para mantenimiento y crecimiento de los rumiantes. El efecto aditivo de los requerimientos arriba de los de mantenimiento, por ejemplo la lactación, requieren ya sea de una ingesta incrementada en la dieta, cambios en los mecanismos homeostáticos, como absorción incrementada, excreción reducida. El metabolismo de cada elemento mineral es diferente con respecto a la absorción, distribución, almacenamiento, excreción y función. Las funciones especializadas de un elemento mineral en particular puede ofrecer el potencial para inducir las ganancias de producción de los tejidos específicos (por ejemplo, lana, hueso y leche) a través de la adición de nutrientes orientados a estos tejidos, aunque permanece incierto como alcanzar esto <sup>7</sup>.

Tradicionalmente la deficiencia en la dieta ha sido considerada como la causa principal en la depleción de los elementos minerales en el organismo. Sin embargo numerosos factores contribuyen y exacerban los efectos de la dieta. El animal, las plantas, suelo, clima, manejo son factores que pueden coadyuvar al desarrollo de un síndrome clínico por deficiencia <sup>8</sup>.

## **2 ANTECEDENTES**

### **2.1 Selenio**

El selenio fue identificado por Berzelius en 1818. El grupo de los anfígenos o calcógenos es el grupo 16 o VIA de la tabla periódica de los elementos, formado por los siguientes elementos: Oxígeno (O), Azufre (S), Selenio (Se), Telurio (Te) y Polonio (Po). El término anfígeno significa formador de ácidos y bases <sup>9</sup>. Tiene propiedades tanto metálicas como no metálicas y se le considera como metaloide. Dentro de la tabla se encuentra entre los metales telurio y polonio y los no metales oxígeno y azufre, dentro del grupo, está entre el metal arsénico y el no metal bromo. Tiene un peso atómico de 78.96, su número atómico es 34, los estados de oxidación del selenio son: -2, 0,+4,+6. Como los otros elementos del grupo VIA, el selenio muestra alotropía, existiendo en un estado amorfo o en alguna de sus tres formas cristalinas (alfa-monocíclico, beta-monocíclico y hexagonal) <sup>10</sup>.

Por varios años el interés biológico en el selenio estuvo limitado a sus efectos tóxicos en los animales. En las planicies del noroeste de Norteamérica se observaban dos enfermedades: la “enfermedad del álcali” y el “vértigo ciego”, las cuales fueron asociadas a la ingesta de plantas seleníferas (acumuladoras de selenio), con una consecuente intoxicación por selenio <sup>11</sup>. Derivado de este descubrimiento, se comenzó a investigar el selenio en suelos, plantas y tejidos animales, con la finalidad de determinar las concentraciones tóxicas e idear soluciones para prevenir esta enfermedad <sup>12</sup>. Es importante mencionar que todas las especies animales son susceptibles a la intoxicación por selenio. Sin embargo es más frecuente en los animales forrajeros como los ovinos, bovinos y caprinos, que pueden ingerir plantas seleníferas. El envenenamiento con Se puede ser agudo o crónico; en ambos casos el selenio tiende a distribuirse en todo el organismo. La concentración es más alta cuando se trata de un envenenamiento agudo que cuando es crónico <sup>13</sup>.

Los trabajos de investigación de Schwarz y Foltz en 1957, demostraron que el selenio juega un papel importante en la fisiología de animales superiores, aun cuando se encuentra en menores concentraciones en los tejidos en comparación con otros elementos minerales esenciales. Estos investigadores demostraron que bajo ciertas dietas, ratas de laboratorio desarrollaban necrosis hepática y que al dar un suplemento de selenio se podía prevenir esta condición. El descubrimiento de la esencialidad del selenio condujo a una nueva era de investigaciones que continua en la actualidad <sup>10</sup>.

Para 1973 Rotruck *et al*, establecieron la relación existente entre el selenio y la Glutación Peroxidasa (GSH-Px), al ser esta última una selenoproteína <sup>10, 12</sup>. Esta enzima, participa en la oxidación del glutati6n reducido y utiliza los equivalentes reductores resultantes para convertir los hidroper6xidos en alcoholes que provocan lesiones menores a las membranas celulares expuestas a la lipoperoxidaci6n <sup>14</sup>.

Las formas de interacci6n entre los elementos minerales son de sinergia o antagonismo. El selenio presenta antagonismo con el azufre, ars6nico, cadmio,

cobre, hierro, mercurio y zinc, el primero como antioxidante y los últimos como oxidantes. Por otro lado existe sinergismo con la vitamina E ya que los dos son antioxidantes uno a nivel membrana y otro a nivel de citoplasma celular. En ciertas condiciones bioquímicas el selenio interactúa con otros elementos minerales tales como: cobre, manganeso y zinc, para formar la superóxido Cu-Zn dismutasa (CuZnSOD); de la superóxido Mn dismutasa (MnSOD) y la glutatión peroxidasa (GSH-Px) respectivamente, que actúan en forma independiente en el control de la lipoperoxidación <sup>2, 3, 10, 15</sup>.

## 2.2 Ciclo del selenio

El selenio se mueve a través del ciclo suelo-planta-animal. El contenido de selenio en las rocas varía en las diferentes formaciones geológicas; en su forma pura, existe en cristales hexagonales negros, pero en la naturaleza comúnmente se encuentra combinado con azufre, plata, cobre, estaño y níquel. La forma de selenio en los suelos depende de factores físicos, químicos y biológicos, entre los cuales se encuentran las formaciones de afloramiento de rocas, descomposición, lixiviación, escurrimiento de yacimientos minerales naturales y formaciones debajo de los mantos freáticos <sup>10, 16, 17, 18</sup>.

El selenio está presente en el suelo en diferentes formas químicas y en diferentes concentraciones, como: selenuro ( $\text{Se}^{-2}$ ), selenio elemental ( $\text{Se}^0$ ), selenito ( $\text{Se}^4$ ), selenato ( $\text{Se}^6$ ). Las sales orgánicas del selenio se encuentran también en el suelo como parte del material vegetal (selenometionina y selenocisteína), pero nunca como parte de la fracción mineral propia del suelo. El selenio oxidado es la forma biológicamente activa, mientras que el selenio elemental reducido se absorbe pobremente <sup>10, 15, 19</sup>. Los suelos alcalinos y bien aireados proveen mayores cantidades de selenio disponible para las plantas en crecimiento, que aquellos que son ácidos y pobremente aireados, debido a que tienden a formar selenatos que son fácilmente utilizados por las plantas. Por el contrario, en pH ácido, los suelos ferrosos junto con los minerales de la arcilla del suelo, forman complejos insolubles con el selenio, que son pobremente utilizables por las plantas. Esta incrementada disponibilidad de selenio se debe

a la forma química del selenio en el suelo y no a la concentración absoluta. El forraje abundante también tiende a tener menores concentraciones de selenio, debido al efecto de dilución en las plantas en crecimiento <sup>19, 20, 21, 22</sup>. La concentración de selenio en las plantas puede variar por los siguientes factores interdependientes: características del suelo, contenido de materia orgánica, pH y drenaje; tipo de forraje, estado de madurez de la planta, manejo del suelo y del forraje y condiciones climáticas y estacionales <sup>2, 15, 21</sup>. Es importante mencionar que los suelos ricos en materia orgánica propiciarán la unión del selenio a compuestos orgánicos, lo que hace más disponible el selenio presente en las plantas; mientras que las sustancias orgánicas juegan un papel importante en el desgaste de rocas con la consecuente liberación de elementos minerales <sup>19, 23</sup>.

Una vez que la planta ha tomado el selenio del suelo principalmente como selenato o selenito, éstos se transportan a las hojas para metabolizarse en los cloroplastos, donde es procesado en la ruta de asimilación del azufre <sup>24, 25</sup>. Se piensa que el selenato es activado por la ATP sulfurilasa, formando adenosina 5'-fosfoselenato (APSe) y después reducido a selenito por la 5'-fosfosulfato reductasa (APS). Una vez que el selenato es reducido a selenito, existe fuerte evidencia que sugiere que es reducido de forma no enzimática a selenuro por glutatión. La existencia de esta ruta no enzimática para la reducción de selenito a selenuro explica porque el selenito es asimilado con mayor facilidad por las plantas que el selenato <sup>26, 27</sup>. La reducción de selenito resulta en la producción de selenoaminoácidos, como la selenometionina y selenocisteína <sup>28</sup>. Posteriormente el selenio es almacenado en las raíces <sup>21</sup>.

### **2.3 Selenio en el ganado lechero**

Las formas prevalentes de selenio consumido por el ganado son el selenito, selenato y selenometionina. El metabolismo ruminal y la absorción intestinal de estos compuestos difieren entre sí. La mayor parte del selenato ( $\text{SeO}_4$ ) consumido por la vaca es reducido a selenito ( $\text{SeO}_3$ ) en el rumen pero algo del selenato sale del rumen y es absorbido en el intestino delgado. En el rumen el

selenito puede convertirse en formas insolubles de bajo peso molecular, esta forma no es disponible para el animal pero si puede ser utilizado por la microbiota ruminal, para sintetizar tanto selenometionina y/o selenocisteína, siempre y cuando las condiciones ruminales, no lo reduzcan, haciéndolo indisponible tanto a la microbiota como al animal <sup>29</sup>. Una parte del selenito es usado para integrarse a aminoácidos como la selenocisteína por actividad de la microbiota ruminal. El selenito sobrante deja el rumen y es eliminado a través de las heces. Los aminoácidos selenificados son absorbidos en el duodeno del intestino delgado después de que la microbiota es digerida por el abomaso y cuando esta alcanza el intestino delgado se absorbe <sup>30</sup>. Por el sistema porta es transportado al hígado, donde una fracción se queda en los hepatocitos. La parte sobrante es transportada mediante la circulación general a los diferentes tejidos del organismo animal <sup>31</sup>.

Las células han desarrollado un método simple para asegurarse que la selenocisteína se inserte en las enzimas en el lugar apropiado. El selenio orgánico que se absorbe va a la célula, donde es reducido a selenuro. Éste se incorpora en el grupo selenol del selenocisteinil ARNt y es incorporado en las selenoproteínas en correspondencia al codón UGA <sup>32, 33</sup>. El complejo sintetizado selenio-cisteína-ARNt<sub>UGA</sub> es colocado en el lugar apropiado durante la síntesis de proteína. Si se absorbe selenocisteína directamente de la dieta, esta no puede insertarse directamente en el sitio activo de la enzima durante la síntesis de proteínas debido a que no tienen el ARNt correcto. La selenocisteína debe catabolizarse y entonces el selenio puede ser reducido a selenuro y se puede sintetizar el complejo selenio-cisteína-ARNt<sub>UGA</sub> <sup>30</sup>.

No hay evidencia de que este proceso se sature o que exista una función alterada de las selenoproteínas que contienen selenometionina comparado con la contraparte de la metionina <sup>34</sup>. Aparentemente las células no pueden diferenciar entre la metionina y la selenometionina; por tanto se puede encontrar selenometionina en todas las proteínas en el organismo. La selenometionina se puede convertir a selenuro y usarse en el complejo selenio-cisteína-ARNt<sub>UGA</sub>. La diferencia entre las sales de selenio orgánico e inorgánico



es que las segundas se usan exclusivamente para producir selenoenzimas, mientras que las formas orgánicas pueden usarse tanto para estas como para un marcaje general de todas las proteínas que contienen metionina <sup>30</sup>. En contraste la biosíntesis del aminoácido selenocisteína y su incorporación dentro de proteínas específicas está altamente regulada. El codón UGA no solo actúa como un codón de detención durante la translación sino que también codifica la incorporación de la selenocisteína en las proteínas <sup>35</sup>.

La homeostasis del selenio está regulada vía excreción en los riñones. Conforme la ingesta de selenio disminuye, la excreción de metabolitos de selenuro en la orina disminuye y viceversa. En caso de alta ingestión, se exhalan formas volátiles (aliento a ajo). Los metabolitos de excreción del selenio, son principalmente metabolitos metilados del selenuro. La eliminación metabólica incluye varias metilaciones dependientes de S-adenosilmetionina, dimetilsulfuro (exhalado) y trimetilselenuro (excretado en la orina) <sup>35</sup>.

## **2.4 Funciones del selenio**

El selenio mantiene una estrecha relación con la vitamina E, aunque ninguno de los dos sustituye las funciones del otro, esto en parte a que la vitamina E es más lipofílica mientras que el selenio es hidrofílico <sup>36, 37</sup>. Ambos protegen a las membranas celulares de peróxidos y otras sustancias reactivas formadas durante los procesos metabólicos normales <sup>38</sup>. El selenio facilita cambios significativos en el metabolismo de varias drogas y xenobióticos. Actúa como contraparte de la toxicidad de varios metales como arsénico, cobre, plata y plomo. Incrementa la síntesis de la deshidrogenasa glucosa-6-fosfato, glutatión reductasa y gamaglutamiltranspeptidasa, logrando llevar el glutatión hepático a un estado más oxidado <sup>39</sup>.

En el ganado, se ha mejorado la fertilidad con la suplementación de vitamina E y Se. La incidencia de metritis y quistes ováricos ha disminuido en animales tratados con inyecciones de selenio y la incidencia de placenta retenida disminuyó cuando se administró selenio solo o en combinación con vitamina E

40 .

El papel positivo del selenio en el sistema inmune está bien documentado, ya que estimula tanto la inmunidad celular como la humoral. Varios estudios clínicos y epidemiológicos han revelado una asociación positiva entre la suplementación de selenio, ya sea solo o en combinación con la vitamina E, con la salud de la ubre. Tanto la severidad y la duración de las infecciones naturales o inducidas así como la cuenta de células somáticas se ha asociado con el estado de selenio de los animales <sup>40</sup>.

El selenio tiene efecto de prevención e inhibición de crecimiento de células cancerígenas. Se han propuesto algunos mecanismos detrás de estos efectos; por ejemplo causando estrés oxidativo, inhibición de la síntesis de ADN e inducción de apoptosis. Algunos compuestos de selenio reaccionan eficientemente con tioles y oxígeno dando como resultado estrés oxidativo debido a la disminución de tioles y la producción de oxígeno reactivo. Por esta razón se piensa que el estrés oxidativo funciona como el mecanismo principal en la citotoxicidad inducida por selenio <sup>41</sup>.

## **2.5 Selenoproteínas**

Estas proteínas incorporan el selenio como un residuo de selenocisteína que se ioniza fácilmente en pH fisiológico y actúa eficientemente en la reducción. De las selenoproteínas que se han identificado, seis son glutatión peroxidasas; tres yodotironina deiodinasas y tres tioredoxina reductasas. La selenoproteína P es la que se encuentra en mayor cantidad en el plasma <sup>42</sup>. El Cuadro 1 muestra algunas selenoproteínas identificadas y sus funciones.

Glutatión peroxidasas (GSHPx): Se conocen al menos seis isoenzimas GSHPx en los mamíferos. La forma 1 la expresan todos los tipos de células en los mamíferos. La forma 3 es un glucoproteína secretada y es la segunda selenoproteína en el plasma. La forma 4 puede reducir los hidroperóxido-fosfolípidos y puede que esté involucrada en la regulación de la apoptosis <sup>42</sup>.

En los eritrocitos y otros tejidos, la glutatión peroxidasa protege a los lípidos de la membrana y a la hemoglobina contra la oxidación por radicales formados a

partir del oxígeno (1 a 5%), entre los cuales se encuentran: el superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), radicales de peróxido ( $ROO^*$ ) e hidroxilo ( $OH^*$ ), los cuales pueden modificar algunos procesos fisiológicos como la función metabólica normal o incrementando la velocidad de oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina, generando una condición conocida como “estrés oxidativo”. Esta condición se da a nivel celular, cuando se producen estos radicales de oxígeno de manera rápida y no pueden ser removidos por los mecanismos antioxidantes del organismo o cuando la capacidad de dichos mecanismos ha sido sobrepasada. De esta forma los radicales ejercen daño sobre la membrana celular. Por tanto, se requieren de antioxidantes nutricionales como el selenio formando parte de la glutatión peroxidasa que rompe los peróxidos, los cuales son el producto final de la reacción de la superóxido dismutasa, en agua y oxígeno <sup>15, 36, 43, 44, 45, 46</sup>.

Tioredoxina reductasas (TRs): Este sistema comprende a la selenoproteína tioredoxina (TrxR) y NADPH, funciona como un sistema proteína disulfuro reductor que regula el estado de reducción de las células; y se piensa que también protege del estrés oxidativo. Las tioredoxina reductasas de los mamíferos son flavoenzimas homodiméricas con FAD, con un residuo de selenocisteína adyacente a la cisteína de cada subunidad de 58 kDa y como todos los miembros de la familia que incluyen la lipoamida deshidrogenasa, glutatión reductasa y la mercurio reductasa, la tioredoxina reductasa contiene un disulfuro reductor adyacente al anillo. Tres TrxR han sido aisladas y caracterizadas en los mamíferos: una en el citosol (TrxR1), mitocondria (TrxR2) y la tercera en los testículos de ratón (TrxR3/TGR). La TrxR1 provee de selenio no solo para su propia síntesis sino también para la síntesis de las demás selenoproteínas; convirtiéndose así en una enzima clave en el metabolismo e interacción de los compuestos de selenio en su función fisiológica. Este sistema se ve involucrado en varias funciones celulares, que incluyen la señalización celular, regulación del crecimiento celular e inhibición de la apoptosis <sup>42</sup>.

Yodotironina deiodinasas: La existencia de estas enzimas fue postulada inmediatamente después del descubrimiento de la T3 en 1952. Se han identificado tres isoformas, las cuales tienen diferentes características bioquímicas, reguladoras y de distribución en los tejidos del organismo. Todas son proteínas integrales de membrana de 29-33kDa, y comparten un 50% de secuenciación. Cada una tiene un residuo de selenocisteína en el centro activo que le confiere una alta actividad catalítica. Las deiodinasas tienen diferente distribución en los tejidos como sustratos. Estas enzimas pueden catalizar la remoción de yodo de las posiciones 5 ó 5' de la Yodotironina y al hacerlo tienen un papel importante en la regulación de la activación e inactivación de las hormonas tiroideas en todos los tejidos. Las deiodinasas muestran una especificidad de expresión en tejido y tiempo durante el periodo fetal y puede que sean reguladores importantes en los procesos de maduración mediante la modificación de las reservas de T3 o los genes responsivos a T3 <sup>42, 47</sup>. La deiodinasa tipo I se expresa principalmente en el hígado, riñón, tiroides e hipófisis anterior. La enzima tipo II se expresa principalmente en sistema nervioso central, hipófisis y en tejido adiposo café de los roedores; en contraste con la tipo I esta se inactiva rápidamente por su sustrato T4 pero no por la T3. La tipo III, activa T4 y sus metabolitos mediante la remoción de átomos de yodo en el anillo tirosil. Este tipo se expresa en varios tejidos como riñón, tiroides, e hipófisis pero no en el hígado adulto. Muestra un perfil de desarrollo diferente comparado con el de las otras dos deiodinasas el cual se cree previene la acumulación de T4 o su metabolito activo T3 en células y tejidos inapropiados especialmente durante el desarrollo pero también en organismos adultos <sup>47</sup>.

Selenofosfato sintetasa: La incorporación del aminoácido selenocisteína en las selenoproteínas es dirigida por un código genético específico y requiere de varios compuestos, incluyendo la selenofosfato sintetasa. Dos formas de esta enzima han sido identificadas en los humanos, SPS1 y SPS2, pero solo la SPS2 es una selenoproteína. Específicamente la selenofosfato sintetasa cataliza la reacción que produce monoselenio fosfato, un donador de selenio en las reacciones biológicas <sup>48, 49</sup>.

Selenoproteína 15kDa: fue descrita por primera vez en estudios de próstata. Tiene un peso aparente de 15 KDa, se expresa principalmente en las glándulas prostáticas, testículos, cerebro, hígado y riñón. Se cree que está involucrada en el control del transporte de proteínas <sup>50</sup>.

Selenoproteína H: es de forma globular, comprende 122 residuos, siendo la selenocisteína el número 44. Se expresa en varios tejidos, pero no hay información experimental acerca de su función <sup>50</sup>.

Selenoproteína I: detectada en varios tejidos, no hay información funcional o estructural disponible <sup>50</sup>.

Selenoproteína K: Microscopia electrónica y análisis estructural secundario indican que es una proteína membranal, pero su función permanece oculta <sup>50</sup>.

Selenoproteína M: se expresa en diversos tejidos, alcanzando los valores más elevados en el cerebro y los más bajos en el bazo. Ésta proteína se localiza en el retículo endoplasmático <sup>50</sup>.

Selenoproteína N: Es una glucoproteína transmembranal que pesa 65kD y contiene un átomo de selenio en la forma de residuo de selenocisteína, característico de esta familia de proteínas; se localiza dentro del retículo endoplásmico. Cuando existe una mutación en el gen SEPN1, la expresión de esta proteína puede conducir a una enfermedad conocida como distrofia muscular de la espina rígida <sup>51, 52</sup>.

Selenoproteína O: similar a la selenoproteína M, con un total de 669 residuos es una proteína grande. Además, no hay más información en su función o localización <sup>50</sup>.

Selenoproteína P: Es una selenoproteína del plasma, sus funciones aun no están establecidas, originalmente se pensó que era una proteína transportadora de selenio, porque aparecía después de la aplicación de selenio inyectado, en el hígado <sup>52</sup>. Actualmente se sabe que el hígado es el sitio principal de síntesis de esta proteína y que transporta selenio del hígado a los

riñones y a otros tejidos, debido a que en su ausencia, la actividad de la glutatión peroxidasa disminuye en el riñón. El argumento en contra de esta función es la naturaleza del selenio en esta proteína, ya que está unido covalentemente a ella y su liberación requeriría romper la proteína para que la célula pueda utilizar el selenio <sup>53</sup>. También se piensa que actúa como un antioxidante extracelular, porque en el plasma humano disminuye la reactividad de peroxinitrito, un intermediario formado de la reacción de monóxido de nitrógeno con el anión superóxido, todo esto en presencia de la GSH-Px <sup>52, 54</sup>. El cerebro es un órgano privilegiado respecto al metabolismo del selenio porque requiere su propia biosíntesis de selenoproteína P para mantener niveles adecuados de selenio; por lo que se ha propuesto un ciclo de la selenoproteína en el mismo, donde sirve como una proteína de almacenamiento y reciclaje local del selenio <sup>53, 55, 56, 57</sup>.

Selenoproteína R: es una proteína citosólica y nucleica, similar en los vertebrados, su homóloga en otros eucariontes y procariotes contiene una cisteína en lugar de una selenocisteína. Muestra actividad específica contra tres tipos principales de metionina-R-sulfoxido reductasas (MsrB por sus siglas en inglés). Se expresa cuando hay estrés oxidativo <sup>50</sup>.

Selenoproteína S: es una hélice sencilla; su expresión se incrementa en ratones diabéticos. La expresión de ésta proteína es inversamente proporcional a la concentración de glucosa en plasma <sup>50</sup>.

Selenoproteína T: su secuencia contiene un Cys-X-X-Sec, similar al sitio activo de tioredoxinas, lo cual sugiere que es importantes propiedades reductivas. Sin embargo, no hay estudios que lo avalen <sup>50</sup>.

Selenoproteína V: muestra similitud con la selenoproteína W, parece estar limitada a los túbulos seminíferos, posiblemente tenga funciones de reducción <sup>50</sup>.

Selenoproteína W: Se ha especulado que esta selenoproteína participa en el metabolismo del músculo cardíaco y esquelético. También es razonable pensar

que pueda tener funciones antioxidantes <sup>58</sup>. Llamada así por su posible asociación con la enfermedad del músculo blanco. Aunque la existencia de la selenoproteína W fue sugerida hace más de 20 años, fue hasta los 90 que se logró purificar a partir de músculo de ratón. Los niveles en tejido de la selenoproteína W se ven afectados por la ingesta y estado de selenio <sup>48</sup>.

## **2.6 Requerimientos de selenio**

La información disponible acerca de los requerimientos de selenio en el ganado lechero, difiere mucho entre sí. Aunado a que los niveles requeridos de cualquier elemento mineral pueden variar por diversos factores entre los que podemos encontrar: tipo de ganado, condiciones de alimentación, forma de administración, etapa productiva y época del año. Las tablas del NRC, señalan que para que un alimento se considere adecuado en cuanto a niveles de selenio, este debe contener 300 ng/g de materia seca <sup>59</sup>.

## **2.7 Formas de suplementación de Selenio**

Los principales métodos utilizados para incrementar la ingesta de selenio en el ganado, incluyen: 1. Libre acceso a suplemento mineral, 2. Fertilización del suelo con selenio, 3. Inyección intramuscular de selenio, 4. Dosis orales, 5. Adición de selenio al agua, y 6. selenio en bolos intra-ruminales. Soluciones acuosas de selenio han sido usadas con éxito como parte de dosis orales o como inyecciones intramusculares o subcutáneas. Las inyecciones subcutáneas, usualmente de selenito de sodio, o dosis orales con este compuesto (10-30mg en vacas y 1-5 mg en las ovejas) son comunes en la prevención de deficiencias en ganado en pastoreo. Inyecciones de selenato de bario, han mostrado tener una larga duración en rumiantes. El selenato de bario como bolo o en inyección subcutánea mantienen los niveles de selenio por al menos 200 días en ovejas y sus corderos. Las mezclas a libre acceso para el ganado en pastoreo deben formularse para aportar 0.1 a 0.3ppm de selenio del total de la materia seca consumida <sup>60</sup>.

## 2.8 Bolos intra-ruminales

Este tipo de suplementación fue desarrollada en Australia como un medio para proveer cobalto. En 1969 Kuchel y Buckley desarrollaron un bolo de selenio elemental y hierro, lo bastante pesado para permanecer en el rumen de los animales, donde lentamente liberaba selenio durante periodos prolongados <sup>61</sup>. A principios de los años ochenta, la Universidad de Leeds junto con una compañía privada desarrollaron un bolo que liberaba cobre, cobalto y selenio por un periodo aproximado de 18 meses, en ganado ovino. Este bolo contenía los elementos minerales como parte de fosfato de sodio, posteriormente los ingredientes se fundían en un bolo de cristal monolítico. En pruebas de campo el bolo, dio buenos resultados liberando los elementos minerales por un periodo de 345 días. No todo fue éxito, se encontraron problemas durante la manufacturación; debido a las fluctuaciones en el horno de fundición los bolos presentaban distintas tasas de disolución (disolución rápida o nula), pero se llevaron a cabo mejoras con el fin de obtener una liberación más consistente en los bolos <sup>62</sup>.

En México se han realizado trabajos con distintos tipos de bolos intra-ruminales. Blanco *et al.* fabricaron bolos con selenio a 5% 10% a partir de selenito de sodio con 46% de selenio, sulfato de cobre con 30% de cobre y cemento dental. Estos bolos fueron administrados a ovejas en condiciones de pastoreo, en Tres Marías estado de Morelos <sup>63</sup>. También se han evaluado bolos *in vitro* fabricados con selenito de sodio al 22% (contiene un 46% de selenio), sulfato de cobre 25% y cementos adhesivo 53%, los cuales fueron suspendidos en cuatro diferentes pH (7.0, 6.5, 6.0 y 5.5) <sup>64</sup>. Gaytan evaluó bolos orgánicos con levadura selplex 14.5%, aglutinante 25%, agente densificador 60% y lubricante 0.5% y bolos inorgánicos con selenito de sodio 0.0705%, aglutinante 25%, agente densificador 74.429% y lubricante 05% <sup>65</sup>.

## 2.9 Deficiencia de selenio

Los signos comunes asociados a una deficiencia de selenio en el ganado incluyen: incremento en la incidencia de retención placentaria (de 8-10% hasta



50%); incremento de ovarios quísticos; estros silenciosos y finalmente está ligada la deficiencia con becerros débiles al momento de la lactación, tasa de crecimiento disminuida, diarreas en los becerros, infecciones urinarias<sup>66, 67</sup>.

En los animales deficientes de selenio se observa que los neutrófilos, macrófagos peritoneales y macrófagos alveolares; tienen disminuida tanto la actividad de la glutatión peroxidasa como el efecto bactericida. La capacidad de fagocitar no está disminuida pero la habilidad de destruir las bacterias engullidas se ve comprometida<sup>66</sup>. Hay inhibición de la resistencia a las infecciones microbianas y virales, la proliferación de los linfocitos B y T disminuye y por último también puede alterar la función de las plaquetas y con esto jugar un papel en el incremento de la incidencia de la aterosclerosis<sup>68, 69</sup>. Esta disminución de las células del sistema inmune coincide con la disminución de la enzima glutatión peroxidasa en los neutrófilos<sup>70</sup>.

La deficiencia de selenio se asocia con enfermedades musculares descritas tanto en ganado como en humanos que define un síndrome llamado distrofia muscular nutricional. Este síndrome se caracteriza, por la necrosis de las fibras del músculo cardíaco y esquelético; la apariencia terminal de esta necrosis es la de una calcificación resultante del depósito de sales calcáreas para neutralizar la acidosis producida por la necrosis<sup>71</sup>.

Estos métodos desarrollados para la suplementación del selenio responden a problemas productivos derivados de la deficiencia de selenio. Se sabe que las áreas afectadas por la deficiencia de selenio son mayores que las afectadas por exceso. A principio de los años setenta se sabía de la deficiencia de selenio en 6 países (Brasil, Ecuador, Honduras, México, Paraguay y Perú)<sup>72</sup>.

En México se han encontrado valores marginales de selenio en el suelo en Carrillo Puerto e Ixtenco en el estado de Tlaxcala<sup>73, 74</sup>. En el estado de Morelos las zonas de Cuajomulco y Tres Marías, en donde existe el desarrollo de ganadería ovina en pastoreo, las concentraciones de selenio en los forrajes producidos son deficientes de este elemento mineral<sup>75</sup>. Para el caso del Estado de Veracruz; Espinosa encontró que los suelos de Catemaco son deficientes

en selenio, asociado a la baja disponibilidad del elemento mineral y al pH ácido del suelo que bloquea la disponibilidad de este. También encontró que los animales de Catemaco presentan una deficiencia de selenio en la sangre <sup>76</sup>. Esta serie de antecedentes se señalan como justificación para implementar la presente investigación

## **2.10 Determinación de niveles de selenio en el ganado**

La principal razón para determinar el estado de los elementos minerales se debe a que la producción se encuentra por debajo de lo esperado. Una parte crítica de la determinación es utilizar el mejor método para medición. No se debe depender solamente de valores tabulares para estimar la ingesta de elementos minerales. Información útil debe incluir el tipo de forraje, método de procesamiento, el forraje, adición de amortiguadores o sales aniónicas, nivel de proteína y solubilidad de esta <sup>77</sup>.

El estado nutricional del ganado puede determinarse mediante la medición de la concentración de selenio o la actividad de la GSH-Px, en varios tejidos, como músculo, hígado o riñones. En casos clínicos, los tejidos de conveniencia incluyen sangre, suero y plasma. Aproximadamente el 98% de la actividad de GSH-Px en la sangre periférica está asociada con los eritrocitos y aproximadamente el 73% del selenio sanguíneo se encuentra en estos últimos. Además la obtención de sangre es menos invasiva que la obtención de una biopsia. Sin embargo, hay varias limitaciones en los análisis de sangre; la vida media de los eritrocitos en el ganado adulto es cercana a los 120 días y los eritrocitos circulantes no poseen la capacidad para incorporar selenio como GSH-Px; esto se debe a que la mayoría de esta enzima se incorpora a la célula al momento de la eritropoyesis. Aun así, la concentración de selenio sanguíneo o la actividad de la GSH-PX en eritrocitos son excelentes indicadores del estado del selenio a largo plazo en el ganado y comúnmente es mejor para la determinación de selenio comparado con el plasma debido a una posible hemólisis de los eritrocitos que pueda causar valores elevados y falsos para el selenio. Las concentraciones de selenio en sangre responden a la ingesta de

este. También se sabe que el uso de selenio en suero para determinar el estado nutricional del ganado no siempre es apropiado. El hato, la temporada y el tiempo de lactación fueron factores significantes que explican la gran variación en los valores de selenio en suero. Las deficiencias clínicas de selenio en los bovinos están asociadas con valores en sangre completa < 30ng de Se/g. Smith et al recomiendan que los niveles adecuados en sangre completa sean de 200 ng de Se/g, Para plasma, la mayoría de los autores recomiendan que el selenio exceda los 70 ng/ml<sup>77, 78</sup>.

Los cambios en la sangre en un lapso de cuatro semanas pueden ser usados para demostrar una adecuada ingesta. Algunos investigadores han señalado que la sangre de ganado no muy deficiente da un mejor indicativo del estado de selenio por dos razones. La primera, la magnitud del cambio en la sangre durante la depleción y repleción es mayor que en el suero o plasma y segunda, los niveles de suero o plasma mantendrán un plató a menores niveles del total de ingesta diarios, que los de sangre. Los niveles de selenio en suero se incrementan linealmente con la ingesta natural de complejos de selenometionina, pero alcanzan un plató con la suplementación de selenato o selenito a niveles de ingesta de aproximadamente 5 mg/animal/día. El nivel de suplementación al cual se dé el plató varía, con la cantidad de selenio de la dieta<sup>79</sup>.

Para resultados interpretativos, es importante conocer como los valores de selenio en suero y los de selenio en sangre se comparan uno con otro en el mismo animal. La relación de selenio sangre, selenio suero, son aproximadamente: 1:1 en cerdos, 1.4 a 1.5:1 en caballos y llamas, 2.5:1 en bovinos y 4:1 en ovinos, particularmente los neonatos<sup>78, 79, 80</sup>.

### **3 HIPÓTESIS**

Los bolos fabricados selenito de sodio y adhesivos para la construcción, liberan selenio en forma constante y prolongada al suspenderlos en agua demineralizada y pH controlado.

Los bolos intra-ruminales con selenito de sodio elevan el selenio sanguíneo, lácteo y fecal durante el ciclo productivo de la vaca del trópico.

### **4 OBJETIVOS**

- ◆ Proporcionar una fuente segura de selenio a partir de bolos intra-ruminales con selenito de sodio durante el ciclo productivo de la vaca lechera del trópico.
- ◆ Determinar la cinética de liberación del selenio de los bolos in vitro.
- ◆ Identificar comparativamente la relación del contenido de selenio del bolo, con el selenio sanguíneo, lácteo y fecal en las vacas que recibieron y no recibieron el bolo intra-ruminal.
- ◆ Relacionar comparativamente el contenido de selenio en las vacas tratadas con las vacas no tratadas.
- ◆ Evaluar la influencia del selenio sobre los parámetros reproductivos de la vaca lechera del trópico.

## **5 MATERIAL Y MÉTODOS**

Como un requisito previo para predecir la liberación del selenio en el rumen, se evaluó la liberación del selenio por los bolos *in vitro*. Esta información es la que se muestra a continuación como Fase I.

### **5.1 Fase I. Prueba in vitro para evaluar la intensidad de liberación del selenio a partir de los bolos**

Se fabricaron 9 bolos con 10 gramos de peso con 5% de selenio, utilizando distintas combinaciones de 3 adhesivos de la construcción, que se denominaron Adhesivo A, Adhesivo B y Adhesivo C, para determinar la combinación que liberara selenio en cantidades adecuadas y por un tiempo prolongado.

La combinación de los adhesivos de la construcción para bolos intra-ruminales quedó en los siguientes grupos:

Combinación 1: 100% Adhesivo A

Combinación 2: 75% Adhesivo A, 25% Adhesivo B

Combinación 3: 50% Adhesivo A, 50% Adhesivo B

Combinación 4: 25% Adhesivo A, 75% Adhesivo B

Combinación 5: 100% Adhesivo B

Combinación 6: 75% Adhesivo B, 25% Adhesivo C

Combinación 7: 50% Adhesivo B, 50% Adhesivo C

Combinación 8: 25% Adhesivo B, 75% Adhesivo C

Combinación 9: 100% Adhesivo C

A cada uno de los bolos, se les adicionó 5% de selenio, a partir de selenito de Sodio (47% Se); y se llevaron a un peso de 10 g, en una balanza analítica. Posteriormente se agregó 2 ml agua destilada y demineralizada para la fabricación del bolo de manera manual (usando guantes de látex). Se dejaron fraguar a temperatura ambiente por 48 horas. Se realizó una nueva medición con la balanza analítica para verificar que el peso fuera de 10 g.

Para cuantificar la liberación de cada bolo, estos se suspendieron en 100 ml de agua demineralizada llevada a un pH de 7.2; pasadas 24 horas se tomaron 10 ml para medir el contenido de selenio liberado por el bolo. A los días 4, 8, 12 y 16 del experimento se volvieron a realizar recambios de agua y lecturas de la concentración de selenio liberado.

Obtenido el líquido de muestra, se efectuó de manera inmediata la medición de selenio con el espectrofotómetro de absorción atómica con flama de aire acetileno, para evitar variaciones en las lecturas derivadas del tiempo de almacenamiento. La lectura se realizó con lámpara de cátodo hueco y flama de aire acetileno. Las condiciones de operación del equipo para el selenio son las señaladas en el manual de operación por el fabricante del equipo. La concentración final se obtuvo después de estimar el valor de la concentración inicial a partir de la absorbancia registrada en el equipo y el punto en la línea de regresión hecha con cantidades conocidas entre la concentración característica y la concentración característica de verificación. La concentración se expresó en nanogramos de selenio por mililitro.

Mediante inspección visual se descartaron aquellas combinaciones que presentaban grietas o desprendimientos en los bolos; las combinaciones que no se eliminaron mediante esta inspección fueron evaluadas mediante la gráfica de liberación para seleccionar 3 combinaciones, con base a su tasa de liberación, que pudieran ser adecuadas para la fase *in vivo*; estas combinaciones nuevamente se suspendieron en agua con las características y especificaciones descritas anteriormente. Las lecturas se realizaron los días 1,

4 y 8. Los bolos se dejaron suspendidos en el líquido por 2 meses y se realizó una inspección visual en la que se hizo énfasis en la integridad de la estructura.

Una vez seleccionada la combinación final para el experimento *in vivo*, se procedió a su elaboración siguiendo la metodología antes descrita pero en esta ocasión la mezcla aun sin fraguar se colocó dentro de un recipiente, con el objeto de obtener una forma cilíndrica que facilitara la colocación del bolo en el tirabolos; con la ayuda de una prensa se aplicó presión a la mezcla para lograr una mejor compactación y eliminar el contenido de aire.

Previo al inicio de la fase *in vivo*, se obtuvieron muestras de sangre de los animales del hato del centro de producción, para corroborar los concentraciones de selenio sanguíneo y evitar con esto una posible intoxicación por los tratamientos.

## **52 Fase II. Desarrollo experimental *in vivo***

El experimento tuvo lugar de mayo a enero; se utilizaron 15 vacas lecheras F1 cruce de cebú con Holstein (HoxC), entre los 5 y 37 días de lactación, en condiciones de pastoreo, durante el ordeño recibían melaza *ad libitum*, posterior a la ordeña pasaban a un corral donde consumían un aproximado de 2kg de concentrado suplementado con sales minerales. Estos animales se encontraban en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganado Tropical; de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, situado en el Municipio de Tlapacoyan, Estado de Veracruz. Dicho centro se ubica a 8km al sureste de Martínez De La Torre, localizado al este de la República Mexicana a 20°27'28" latitud norte y 90°04'30" longitud oeste. El Municipio cuenta con un clima tropical con una temperatura media anual de 24.1°C. La precipitación anual es de 1505.3mm, siendo la máxima de 2136mm y la mínima de 1199mm. En la mayor parte de su extensión los terrenos son planos y con ligeros declives y prominencias, aunque existen áreas sumamente bajas cercanas a la costa, esteros, ríos y algunos lugares de loma con terrenos pedregosos<sup>81</sup>.

Para el estudio principal se formaron 3 grupos (n=5). A cada animal se le administró un bolo con peso de 11g (10g de adhesivos y 1g de un cuerpo esférico de acero inoxidable, éste último con la finalidad de poder detectar el bolo mediante una placa radiografía para confirmar su presencia en la vaca) por vía oral, mediante la ayuda de un tirabolos. El primer grupo o testigo recibió los bolos sin selenio, el segundo grupo recibió bolos con 5% de selenio y el tercer grupo recibió bolos con 10% de selenio.

Se tomaron muestras de sangre entera para identificar la absorción del selenio liberado de los bolos mediante punción de la vena coccígea en tubos vacutainer® estériles con anticoagulante (EDTA). También se obtuvieron muestras de excretas del recto por extracción manual y de leche al momento del ordeño. Los muestreos se efectuaron los días 0, 5, 15, 30, 60, 120, 180 y 240 del experimento. Para conocer el aporte de selenio por parte de la dieta se tomaron muestras del concentrado, praderas y melaza. Una vez colectadas las muestras se mantuvieron en refrigeración para su transportación al laboratorio de toxicología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Para la digestión de las muestras de sangre y leche se utilizó ácido nítrico, peróxido de hidrogeno, agua demineralizada y energía electromagnética hasta la eliminación de la materia orgánica. El líquido obtenido después de la digestión se llevó a un aforo de 15 ml. Para el análisis de selenio en las muestras de heces, éstas se suspendieron en 50 ml de ácido nítrico al 20% por una hora después se filtraron usando un filtro de poro grueso y se centrifugaron por 10 minutos a 2500 rpm. Posteriormente para la cuantificación del selenio en todas las muestras se utilizó el generador de hidruros acoplado a un espectrómetro de absorción atómica, siguiendo las especificaciones descritas en el manual de operación del mismo<sup>82</sup>. La concentración del selenio se expresó en nanogramos por gramo de muestra; la concentración final se obtuvo después de la estimación de la concentración inicial, a partir de la absorbancia para cada muestra en el punto de localización de la línea de la regresión lineal entre concentración y absorbancia de los estándares. La concentración final se calculó al multiplicar la concentración inicial por el aforo



divido entre la alícuota y posteriormente dividido entre el número de gramos de la muestra.

### **5.3 Determinación de la involución uterina y actividad ovárica posparto**

El diámetro (cm.) del útero y los cuernos uterinos fueron medidos en la curvatura mayor, y se determinó por ultrasonografía de tiempo real, utilizando un transductor de 7.5 MHz, dos veces por semana, iniciando a los 14 días posparto y hasta que los valores se estabilizaron en dos ocasiones consecutivas.

### **5.4 Determinación del reinicio de la actividad ovárica**

Para determinar el tiempo en que se inició la actividad ovárica posparto se realizó ultrasonografía de los ovarios dos veces por semana, iniciando a los 14 días posparto y hasta detectar la presencia de folículos  $> 8\text{mm}$  ( $F>8$ ), cuerpo lúteo (CL) y/o detección del primer estro posparto.

### **5.5 Determinación de los días abiertos**

La inseminación artificial se realizó 12 horas después de haber iniciado los primeros signos de estro. El diagnóstico de gestación se realizó a los 30 y 60 días post-servicio, por ultrasonografía y por palpación rectal.

La evaluación visual de resultados se realizó por medio de gráficas y cuadros. El análisis estadístico se realizó descriptivo y con la aplicación de análisis de observaciones repetidas durante el experimento y análisis diferencial entre grupos mediante ANOVA y análisis de contrastes.

## 5.6 Diseño estadístico:

El diseño estadístico fue completamente al azar. El modelo utilizado fue;

$$J_{ijk} = \mu + \text{Días}_i + \text{Se}_j + (\text{Días} \times \text{Se})_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde;

$J_{ijk}$  = Concentración de selenio en sangre en el i-ésimo día con el j-ésimo concentración de selenio, con la interacción del i-ésimo día y j-ésimo nivel de selenio y el error experimental en el i-ésimo día, j-ésimo valor de selenio y k-ésima vaca.

$\mu$  = Media poblacional

$\text{Días}_i$  = Efecto del día ( $i = 0, 5, 10, 15, 30, 60, 120, 180, 240$ )

$\text{Se}_j$  = Efecto del valor de selenio ( $j = 0, 5$  y  $10\%$ )

$(\text{Días} \times \text{Se})_{ij}$  = Efecto de la interacción días x selenio

$\varepsilon_{ijk}$  = Error experimental

Los análisis estadísticos se realizaron con el procedimiento Mixed de SAS (versión 9.00) para medidas repetidas en el tiempo en donde el factor aleatorio fue vaca dentro de selenio.

## 6 RESULTADOS

El Cuadro 2 y la Figura 1 muestran las lecturas obtenidas del contenido de selenio liberado de los bolos fabricados con las nueve combinaciones de adhesivos de la construcción. Mediante la inspección visual se pudo apreciar que las combinaciones marcadas 3, 4, 8 y 9 presentaban desprendimientos y grietas, por esta razón se eliminaron del experimento.

Como se puede apreciar en la Figura 1, las tasas de liberación de las combinaciones marcadas como 1 y 2, fueron muy bajas, por esta razón se descartaron para su uso en la fase de aplicación de los bolos al ganado

Las combinaciones restantes (5, 6 y 7), mostraron buena integridad física y una liberación de selenio adecuada, de cada una se fabricaron 5 réplicas, para escoger la combinación, que se usó en la fase *in vivo*. En el Cuadro 3 se muestran las concentraciones promedio obtenidas de las lecturas de los bolos fabricados con las combinaciones antes mencionadas.

Con base en la identificación del contenido de selenio liberado en el líquido donde sobrenadaban los bolos se decidió que los bolos del grupo marcado con el 7, eran adecuados para su uso en el ganado. La liberación inicial máxima fue de 22.45 ng Se/bolo, para observarse una drástica caída hasta concentraciones de 6.02 ng Se/bolo

Seleccionada la mezcla (marcada como número 7) para la fabricación de los bolos, se pesó medio gramo para su digestión con ácido nítrico, peróxido de hidrogeno y agua demineralizada; la digestión se completó con energía electromagnética. El líquido obtenido después de la digestión se llegó a un aforo de 15 ml y se realizó una lectura con el espectrómetro de absorción acoplado a un generador de hidruros, para detectar selenio, arsénico y mercurio. El resto de los elementos se leyeron con flama en las condiciones de operación establecidas en el manual del mismo. El Cuadro 4 resume las concentraciones de elementos minerales cuantificados de la mezcla.

Como se mencionó en el capítulo de material y métodos, previo a la fase *in vivo* se obtuvieron muestras de sangre de 12 de las vacas usadas en el presente trabajo, el Cuadro 5 muestra las concentraciones obtenidas, las cuales se encuentran por debajo de las indicadas en la literatura citada.

### **6.1 Selenio en el alimento**

El valor de selenio presente en el concentrado consumido por las vacas fue de 231.53 ng Se/g; el valor de la melaza fue de 4.27 ng Se/g; mientras que los valores de las praderas donde pastaban las vacas fueron los siguientes: 53.58, 143.95, 129.00, 22.25, 74.70 y 54.1 ng Se/g respectivamente.

### **6.2 Selenio en sangre**

La figura 2 y el Cuadro 6 muestran, las concentraciones de selenio en sangre completa de los animales que recibieron los tratamientos.

De acuerdo con el análisis estadístico realizado con Proc Mixed de SAS, se observó que existe un efecto significativo entre los tratamientos ( $P < 0.0001$ ) y entre la interacción tratamiento\*día ( $P = 0.0342$ ).

Para los tratamientos, se encontró que existe diferencia significativa entre los bolos al 10% y los bolos al 0% ( $P < 0.0001$ ) y entre los bolos al 10% y los bolos al 5% ( $P < 0.0001$ ). En contraparte no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos al 0% y 5% ( $P = 0.7322$ ).

Dentro del tratamiento al 0% no se encontraron diferencias significativas con las concentraciones al día 5 y las concentraciones de los días posteriores del experimento. Al día 30 del experimento la concentración sanguínea de selenio alcanzó los  $18.77 \pm 0.94$  ng Se/g en promedio, la mayor para este tratamiento. Esta concentración tuvo una diferencia significativa con las concentraciones de  $7.66 \pm 0.38$  ng Se/g del día 180 ( $P = 0.0304$ ) y la concentración de  $6.82 \pm 0.34$  ng Se/g del día 240 ( $P = 0.0202$ ). La concentración de selenio sanguíneo al día 120 fue  $17.00 \pm 0.85$  ng Se/g y tuvo una diferencia significativa ( $P = 0.0468$ ) con la

concentración del día 240 ( $6.82 \pm 0.34$  ng Se/g). Siendo la primera casi tres veces mayor que la segunda.

Dentro del tratamiento con bolos al 5% se encontró diferencia significativa entre el día del 60 del experimento ( $23.45 \pm 1.17$  ng se/g) y los días 5 ( $5.62 \pm 0.28$  ng Se/g) ( $P=0.0007$ ); 30 ( $18.77 \pm 0.94$  ng Se/g) ( $P= 0.0306$ ) y 180 ( $7.75 \pm 0.39$  ng Se/g) ( $P=0.0025$ ).

Los resultados de selenio sanguíneo, para el tratamiento con bolo al 10%, mostraron que existe diferencia significativa entre el día 5 y los días 30 ( $P=0.0085$ ), 180 ( $P=0.0179$ ) y 240 ( $P=0.0386$ ). El valor sanguíneo de selenio del día 5 fue de  $21.39 \pm 1.07$  ng Se/g, por debajo del valor del día 30 ( $34.98 \pm 1.75$  ng Se/g); aunque esta concentración estuvo por encima de la del día 180 ( $9.21 \pm 0.46$  ng Se/g) y del día 240 ( $10.80 \pm 0.54$  ng Se/g). Para el día 15 la concentración de selenio en sangre fue de  $31.12 \pm 1.56$  ng Se/g, esta tuvo diferencia significativa con los valores de  $9.21 \pm 0.46$  ng Se/g del día 180 ( $P < 0.0001$ ) y la concentración de  $10.80 \pm 0.54$  ng Se/g del día 240 ( $P=0.0001$ ). Al día 30 se alcanzó en este tratamiento la concentración de selenio sanguíneo más elevada de todo el experimento ( $34.98 \pm 1.75$  ng Se/g), esta, como ya se ha mencionado, tuvo diferencia significativa con los valores del día 5; también se encontró diferencia significativa con la concentración promedio de  $24.73 \pm 1.24$  ng Se/g del día 60 ( $P=0.0453$ ), del día 180 ( $P < 0.0001$ ) y del día 240 ( $P < 0.0453$ ). Entre el día 60 y los días 180 y 240 se encontraron diferencias significativas ( $P=0.0028$ ) y ( $P=0.0070$ ) respectivamente. La concentración promedio para el día 120 fue  $26.85 \pm 1.34$  ng Se/g y tuvo diferencia significativa con los valores del día 180 ( $P=0.0008$ ) y del día 240 ( $P=0.0020$ ).

Para identificar la diferencia del efecto entre tratamientos por día se consideraron todos los días de muestreo (5, 15, 30, 60, 120, 180 y 240).

Al día 5 del experimento la concentración de  $21.39 \pm 1.07$  ng Se/g del tratamiento al 10% se encontró por encima de los valores promedio del bolo al 0% ( $8.86 \pm 0.44$  ng Se/g) y del bolo al 5% ( $5.62 \pm 0.28$  ng Se/g). El análisis

estadístico mostró diferencia significativa entre este tratamiento y los tratamientos al 0% ( $P=0.0106$ ) y al 5% ( $P=0.0019$ ). Entre estos dos últimos no se encontró diferencia significativa ( $P=0.5611$ ).

En el día 15 nuevamente se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento al 10% con los tratamientos al 0% ( $P=0.0016$ ) y al 5% ( $P=0.0022$ ). La concentración promedio del tratamiento al 10% fue de  $31.12 \pm 1.56$  ng Se/g, mientras que los tratamientos al 0 y 5% fueron similares ( $15.33 \pm 0.77$  ng Se/g y  $15.60 \pm 0.78$  ng Se/g, respectivamente) ( $P=0.9099$ ).

En el día 30 ( $34.98 \pm 1.75$  ng Se/g) se encontró diferencia significativa entre el tratamiento al 10% y los tratamientos al 0% ( $18.77 \pm 0.94$  ng Se/g) ( $P=0.0013$ ) y del 5% ( $12.36 \pm 0.62$  ng Se/g) ( $P < 0.0001$ ).

La concentración alcanzada por el tratamiento al 10% al día 60 fue  $24.73 \pm 1.24$  ng Se/g y tuvo diferencia significativa con el valor promedio de  $14.96 \pm 0.75$  ng Se/g del tratamiento al 0% ( $P=0.0410$ ).

En el día 120 se encontró diferencia significativa entre las concentraciones sanguíneas del tratamiento al 10% ( $26.85 \pm 1.34$  ng Se/g) y las de los tratamientos al 0% ( $P=0.0395$ ) y al 5% ( $P < 0.0076$ ). La concentración del bolo al 0% para este día fue de  $17.00 \pm 0.85$  ng Se/g mientras que el bolo al 5% alcanzó una concentración de  $13.51 \pm 0.68$  ng Se/g.

Para los días 180 y 240 del experimento no se encontró por día ninguna diferencia significativa entre los tratamientos.

### **6.3 Selenio en heces**

La figura 3 y el Cuadro 7 muestran las concentraciones de selenio leídas en las heces del ganado utilizado en el experimento.

Para las concentraciones de selenio en heces, el análisis estadístico arrojó los siguientes resultados: se encontró diferencia significativa por el efecto de día ( $P < 0.0001$ ).

La concentración de selenio fecal del día 5 con el tratamiento bolo al 0% fue de  $24.18 \pm 1.21$  ng Se/g y se observó que tuvo diferencia significativa con las concentraciones de  $6.50 \pm 0.33$  ng Se/g del día 120 ( $P = 0.0065$ ); de  $3.41 \pm 0.17$  ng Se/g del día 180 ( $P = 0.0015$ ) y de  $9.40 \pm 0.47$  ng Se/g del día 240 ( $P = 0.0220$ ) respectivamente. Para el día 15 la concentración promedio fue  $33.81 \pm 1.69$  ng Se/g y tuvo diferencia significativa con las concentraciones de  $17.52 \pm 0.88$  ng Se/g del día 30 ( $P = 0.0118$ ); de  $6.50 \pm 0.33$  ng Se/g del día 120 ( $P < 0.0001$ ); de  $3.41 \pm 0.17$  ng Se/g del día 180 ( $P < 0.0001$ ) y de  $9.40 \pm 0.47$  ng Se/g del día 240 ( $P = 0.0002$ ). La concentración de selenio fecal del día 30 tuvo diferencia significativa con la concentración de  $32.69 \pm 1.63$  ng Se/g del día 60 ( $P = 0.0188$ ) y la de  $3.41 \pm 0.17$  ng Se/g del día 180 ( $P = 0.0285$ ). Por último se encontró diferencia significativa entre el día 60 y los días 120 ( $P < 0.0001$ ), 180 ( $P < 0.0001$ ) y 240 ( $P = 0.0004$ ).

La concentración al día 5 para los bolos al 5% fue en promedio de  $8.58 \pm 0.43$  ng Se/g y se encontró que existió diferencia significativa con la de  $27.55 \pm 1.38$  ng Se/g del día 15 ( $P = 0.0036$ ); la de  $33.59 \pm 9.96$  ng Se/g del día 60 ( $P = 0.0002$ ) y la de  $21.47 \pm 1.07$  ng Se/g del día 240 ( $P = 0.0449$ ). La concentración de selenio en heces del día 15 tuvo diferencia significativa con las concentraciones de los días 30 ( $P = 0.0118$ ), 120 ( $5.54 \pm 2.55$  ng Se/g) ( $P = 0.0008$ ) y 180 ( $0.55 \pm 0.56$  ng Se/g) ( $P < 0.0001$ ) respectivamente. Por otra parte la concentración del día 30 tuvo diferencia significativa con los valores de  $33.59$  ng Se/g del día 60 ( $P < 0.0001$ ) y del día 240 ( $P = 0.0020$ ). El valor del día 60 tuvo diferencia significativa con las concentraciones de  $5.54 \pm 0.28$  ng Se/g del día 120 ( $P < 0.0001$ ) y del día 180 ( $P < 0.0001$ ). Finalmente se encontró diferencia significativa entre las concentraciones del día 240 con las de los días 120 ( $P = 0.0137$ ) y 180 ( $P = 0.0014$ ).

Para el tratamiento con bolos al 10% la concentración del día 5 fue de  $19.66 \pm 0.98$  ng Se/g y se encontró diferencia significativa con las concentraciones de  $34.00 \pm 1.70$  ng Se/g del día 15 ( $P=0.0260$ ), de  $5.70 \pm 0.29$  ng Se/g del día 30 ( $P=0.0302$ ), de  $34.11$  ng Se/g 60 ( $P=0.0250$ ) y de  $1.01 \pm 0.05$  ng Se/g del día 180 ( $P=0.0042$ ) respectivamente. El valor del día 15 tuvo diferencia significativa con los de los días 30 ( $P<0.0001$ ), 120 ( $P=0.0029$ ), 180 ( $P<0.0001$ ) y el valor de  $9.89 \pm 0.49$  ng Se/g del día 240 ( $P=0.0003$ ). Al día 60 hubo diferencia significativa con los valores del día 30 ( $P<0.001$ ), de  $14.60 \pm 0.73$  ng Se/g del día 120 ( $P=0.0028$ ), del día 180 ( $P<0.0001$ ) y del día 240 ( $P=0.0003$ ). Así mismo se encontró diferencia significativa del día 120 con el día 180 ( $P=0.0347$ ).

Para identificar la diferencia del efecto entre tratamientos por día se consideraron todos los días de muestreo (5, 15, 30, 60, 120, 180 y 240).

Solo se encontraron diferencias significativas al día 5 entre los tratamientos al 0 y 5% ( $P=0.0127$ ) y el día 30 nuevamente entre estos dos ( $P=0.0096$ ).

#### **6.4 Selenio en leche**

La figura 4 y el Cuadro 8 muestran, las concentraciones de selenio en leche de los animales que recibieron los tratamientos.

El selenio lácteo se mantuvo durante el experimento en valores entre 0 y 10 ng/ml excepto en el muestreo del día 15 cuando se identificó un alza en los 3 grupos hasta concentraciones entre 18 y 55 ng/ml. Este último valor correspondió al grupo que recibió el bolo con 10% de selenio (Figura 4).

Las concentraciones de selenio en leche tanto para el efecto del día como para la interacción tratamiento día ( $P<0.0001$ ) y ( $P=0.0036$ ) fueron estadísticamente diferentes.

En el grupo con bolos del 0% de selenio se encontró que hubo diferencia significativa entre la concentración de  $34.81 \pm 1.74$  ng Se/g del día 15 y las concentraciones de  $2.01 \pm 0.10$  ng Se/g del día 5 ( $P<0.0001$ ); de  $1.16 \pm 0.06$  ng



Se/g del día 30 ( $P < 0.0001$ ); de  $5.80 \pm 0.29$  ng Se/g del día 60 ( $P = 0.0001$ ); de  $8.98 \pm 0.45$  ng Se/g del día 120 ( $P = 0.0006$ ) y de  $0.47 \pm 0.02$  ng Se/g del día 180 ( $P < 0.0001$ ).

En cuanto al tratamiento al 5% solo se encontró diferencia significativa entre los días 15 y 30 del experimento ( $P = 0.0194$ ); con concentraciones de  $17.97 \pm 0.90$  ng Se/g y de  $0.88 \pm 0.49$  ng Se/g respectivamente.

Al igual que con los bolos al 0%, en el tratamiento al 10% se encontraron diferencias significativas de la concentración del día 15 ( $58.29$  ng Se/g) con los valores de  $3.83 \pm 0.19$  ng Se/g del día 5 ( $P < 0.0001$ ), de  $4.06 \pm 0.20$  ng Se/g del día 30 ( $P < 0.0001$ ), de  $6.03 \pm 0.30$  ng Se/g del día 60 ( $P < 0.0001$ ), de  $7.15 \pm 0.36$  ng Se/g del día 120 ( $P < 0.0001$ ) y de  $2.02 \pm 0.10$  ng Se/g del día 180 ( $P < 0.0001$ ).

Para el análisis entre tratamientos se consideró un día a la vez, comenzando por el día 5 y posteriormente a los días 15, 30, 60, 120 y 180.

Se encontró diferencia significativa al día 15 entre el tratamiento con 0% y los tratamientos con 5% ( $P = 0.0143$ ) y con 10% ( $P = 0.0076$ ). En este mismo día se encontró diferencia entre los tratamientos del 5% con el de 10% ( $P < 0.0001$ ).

Se calculo la cantidad de selenio lácteo total al multiplicar el contenido de selenio en cada gramo por el volumen de leche producida. Ver figura 7.

## **6.5 Producción leche**

La figura 5 y el Cuadro 9 muestran la producción láctea del ganado utilizado en el experimento.

Para este parámetro el análisis estadístico mostró que existe diferencia significativa por día ( $P < 0.0001$ ).

Se encontró que en el tratamiento con bolos al 0% hubo diferencia significativa con la producción láctea de  $5.64 \pm 0.28$  L del día 180 con las producciones de los días 5 ( $11.68 \pm 0.58$  L) ( $P = 0.0006$ ), 15 ( $13.40 \pm 0.67$  L) ( $P < 0.0001$ ), 30

(12.16±0.61 L) (P=0.0002), 60 (10.52±0.53 L) (P=0.0047) y 120 (5.64±0.28 L) (P=0.0434). También se encontró diferencia significativa entre las producciones lácteas de los días 15 y 120 (P=0.0119).

Para el tratamiento al 5% se encontró que la producción láctea al día 5 fue 14.60±0.73 L y se encontró que tuvo diferencia significativa con la producción de 9.72±0.49 L del día 120 (P=0.0047) y de 5.04±0.25 L del día 180 (P<0.0001). Al día 15 se alcanzó una producción láctea promedio de 15.68±0.78L y se encontró diferencia significativa con las producciones de los días 120 (P=0.0007) y 180 (P<0.0001). Para el día 30 se obtuvieron 14.00±0.70 L, esta producción tuvo diferencia significativa con las de los días 120 (P=0.0126) y 180 (P<0.0001). Por último hubo diferencia significativa del día 180 con los días 60 (P<0.0001) y 120 (P=0.0066).

Para el tratamiento con bolos al 10% se encontró que la producción de 10.75±0.54 L del día 5 tuvo diferencia significativa con las producciones de los días 120 (7.90±0.40 L) (P=0.0261) y 180 (7.35±0.37 L) (P=0.0183). También se encontró que entre la producción de 11.25±0.56 L del día 15 hubo diferencia con las producciones de los días 120 (P=0.0172) y 180 (P=0.0119).

Para el análisis entre tratamientos se consideró un día a la vez, comenzando por el día 5 y posteriormente a los días 15, 30, 60, 120 y 180.

En el día 180 se encontró diferencia significativa entre el tratamiento al 5% y el tratamiento al 10% (P=0.0105).

## **6.6 Selenio en la reproducción**

El cuadro 10 muestra las lecturas obtenidas de la ultrasonografía en las vacas utilizadas en el presente trabajo. Para comparar las diferencias entre las medias de los tratamientos se realizó un análisis de varianza y se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 10.0. En ninguno de los parámetros estudiados se encontró diferencia estadística significativa (P>0.05).

## 7 DISCUSIÓN

Se han utilizado con éxito diversos compactantes para la fabricación de bolos intra-ruminales, con diferentes elementos minerales. Esta diferencia de materiales conlleva a distintos tiempos e intensidad de liberación. Se han venido usando bolos conteniendo Se, I, Fe, Zn, Co, Mn, Cu entre otros muchos. La decisión de incluir cierto mineral depende de las necesidades del ganado al que se le intenta administrar. De este precepto nace la necesidad del estudio previo en los alimentos de los rumiantes utilizados en experimentación.

En el estudio realizado por Gutiérrez *et al.* la concentración máxima utilizada para la fabricación de bolos aplicados a ovinos fue del 10% con un peso aproximado de 5 gramos, éstos animales tuvieron un peso promedio de 50 Kg<sup>83</sup>. Si se toma en cuenta esto datos los ovinos del experimento que recibieron alrededor de 500mg por bolo al 10%; ésta misma cantidad de selenio fue administrada para vacas lecheras en el presente estudio a través de los bolos con el 5% de selenio y del doble en aquellos que recibieron los bolos al 10%. Esto podría explicar la respuesta pobre en el aumento de los niveles de selenio en sangre completa, por tanto se necesita fabricar un bolo de acuerdo a las necesidades de ganado con mayor peso corporal. La decisión de fabricar bolos de este peso se tomó desde el principio del experimento para evitar una posible toxicosis en el ganado utilizado.

### 7.1 Selenio en el alimento

De los análisis practicados al alimento; se encontró que el concentrado tuvo una cantidad adecuada de selenio (231.53 ng Se/g), mientras que el forraje en base seca solo tenía 80 ng Se/g. Si se hace el estimado del total de forraje consumido (13kg BS) al diluirse el selenio del concentrado sobre el total del alimento se llega 97 ug Se/Kg de alimento lo que indica que la cantidad de selenio sigue estando deficiente.

## 7.2 Selenio sanguíneo

Al inicio del experimento las vacas no presentaban algún signo de deficiencia de selenio. La concentración media de este elemento mineral en sangre completa fue de 21.38 ng Se/g, muy por debajo de los valores utilizados como de referencia de 80 a 180 ng/g<sup>3</sup> ó 100 ng/g<sup>2, 12</sup> y de acuerdo a la clasificación elaborada por Puls estos animales se encontraban en estado de deficiencia<sup>84</sup>. Es importante señalar que la mayoría del ganado de otros estudios se encontraba a mayor altitud sobre el nivel del mar, debido a que se sabe que el estrés oxidativo puede ser mayor en grandes altitudes por una combinación de factores, como son la fluctuación de la temperatura u oxigenación pobre de la sangre provocada por la hipoxia asociada a grandes alturas<sup>85, 86</sup>; al ser mayor el nivel de estrés la demanda de antioxidantes como el selenio y la vitamina E puede ser mayor por tanto; los animales deben mantener mayores niveles de selenio para lidiar con esta condición. Otra consideración que podría tomarse en cuenta es que en la mayoría de los estudios el ganado es de tipo europeo mientras que en el presente, se trabajó con ganado F1.

La concentración sanguínea promedio más cercana a la de este estudio fue de 32.2ng Se/g encontrada en ganado cebuino en Catemaco en el Estado de Veracruz<sup>76</sup>. En este mismo estudio se identificaron las concentraciones de ganado Angus en el altiplano mexicano (León, Guanajuato) con valores de 45.2 ng Se/g. Cantidades parecidas también fueron encontrados en un hato en Ixtlahuaca, Estado de México; animales que cursaron con mal de alturas tuvieron un valor promedio de 43.5ng /g de selenio sanguíneo<sup>87</sup>.

Los bolos con la concentración al 10%, de este experimento lograron mantener concentraciones en sangre completa, por encima del grupo testigo; al igual que lo encontrado en bovinos por Sprinkle<sup>88</sup>, Hemingway<sup>89</sup> y Amador<sup>90</sup>; y en ovinos por Kendall<sup>62</sup> y Zervas<sup>91, 92</sup>.

La respuesta máxima del selenio en sangre completa para el grupo con bolos al 10% se observó a los 30 días en cambio para el grupo con el 5% ésta misma respuesta se observó hasta los 60 días; esto se interpreta como: que la

cantidad de selenio liberada por el bolo fue más alta y más rápida al compararse con el del 5%. Donde la respuesta se observó al siguiente muestreo (30 días después). El hecho de que se haya incremento el grupo 10% comparado con el grupo 5% también se interpreta como que la actividad de la microbiota ruminal fue pronta y más pronta.

Como ya se mencionó, antes de la administración de los bolos, se obtuvieron muestras de sangre de los 12 animales usados en el experimento, la concentración media de selenio en sangre completa fue de 51.47 ng Se/g, al inició del experimento la concentración media había bajado a 21.38 Se/g ng/g. Disminuciones de los niveles de selenio en suero han sido descritos en ovinos gestantes y posteriormente lactando<sup>93, 94</sup>. Esto puede explicarse, porque en las vacas los últimos sesenta días de la gestación, son críticos para transferencia de selenio de la madre al becerro, lo cual puede causar un pérdida significativa de este elemento mineral<sup>95</sup>.

### **7.3 Selenio fecal**

Al presentar la información del selenio fecal; es con el fin de identificar la cantidad de selenio liberado por los bolos que no fue absorbida por el animal. El contenido de selenio fecal identificado corresponde solamente al selenio extractable, es decir el libre y que no formó parte de los ingredientes del alimento. Esto quiere decir que cuanto más selenio libre se encontró en el excremento, menor fue la biodisponibilidad de este.

Como se puede apreciar en la Figura 3, la respuesta de las concentraciones de selenio fecal en los tres tratamientos fue similar; entre los días 0 y 5 del experimento las concentraciones fueron similares, excepto con el tratamiento con bolo al 5% donde se observó una caída entre estos días. Hacia el día 15 las concentraciones aumentaron en los tres tratamientos para volver a caer en el día 30; hacia el día 60 se observan concentraciones similares a las del día 15, para después caer a los días 120 y 180 y volver a elevarse ligeramente al día 240.

Gutiérrez encontró que la cantidad de selenio en heces fue baja, posiblemente por aprovechamiento del selenio por parte de los ovinos. La respuesta que encontró en el selenio fecal fue similar a la del presente trabajo; puesto que al inicio del experimento la concentración de selenio estaba cercana a los 10 ng Se/g para subir hasta los 200 ng Se/g al día, observándose un repunte al día 45 y una caída en el día 60. Las variaciones encontradas en este estudio pueden explicarse por el aprovechamiento de selenio por parte de la microbiota ruminal.

Por otra parte se ha visto que la fuente de selenio no afecta significativamente la concentración de selenio en las heces, sin embargo si se incrementa la cantidad de selenio administrado de 0.15 a 0.4 mg/kg de MS las concentraciones se elevan de 0.37 a 0.78 mg/kg <sup>96</sup>.

#### **7.4 Selenio lácteo**

La concentración promedio inicial de selenio lácteo de los animales de este experimento fue de 7.20 ng Se/g, los cuales estuvieron por encima de los valores encontrados en las provincias polacas de Olsztyn (4.6 ng Se/g) y Siedlce (6,72 ng Se/g) pero se encontraron por debajo de los valores en la provincia de Legnica (17.2 ng Se/g) <sup>97</sup>; similares a las concentraciones iniciales de un grupo de vacas que recibió una suplementación de selenio a partir de levaduras (17.0 ng Se/g), por otra parte el grupo que recibió selenito de sodio como fuente de selenio en el mismo experimento tuvo una concentración inicial de 13.7ng Se/g <sup>98</sup>; comparables con las concentraciones en ganado bovino de un estudio comparativo de leches de diferentes mamíferos (12.6 ng Se/g) <sup>99</sup>. El Cuadro 7 resume los valores de selenio lácteo encontrados en diferentes estudios a nivel mundial, e ilustra la gran variabilidad que existe en cuanto a los niveles lácteos de selenio en el mundo.

Amador <sup>90</sup>, encontró en la segunda fase de su experimentación, que después de la administración del bolo los niveles de selenio lácteo se incrementaban ligeramente hasta el día 30; para alcanzar un máximo hasta el día 45 y después regresar a valores cercanos a los iniciales al día 90. Los resultados de

este experimento, muestran que en el tratamiento al 10% entre el día 5 y 15 hubo un aumento de casi tres veces la concentración láctea de selenio, para después caer y mantenerse a lo largo del experimento, en valores por debajo de los iniciales. Por otro lado Muñiz <sup>100</sup> encontró que al usar levaduras enriquecidas con selenio, las concentraciones de selenio lácteo se mantuvieron por encima de los valores basales, sin disminuir drásticamente hasta por 40 días.

El pico encontrado a los 15 días de la leche posiblemente se deba a una sal diferente del selenio (sin que haya sido biotransformada por bacterias y posteriormente acarreado al hígado) en cambio se puede hipotetizar se absorbió como selenuro

### **7.5 Selenio y producción láctea**

En la figura 5 se puede apreciar que las variaciones de la producción fueron paralelas y así se mantuvieron durante el experimento. La producción se inició con un promedio de 15 Litros, y de 5 L al término de la lactancia (día 180). El comportamiento de la producción fue paralelo entre los 3 grupos con tendencia a la disminución durante el experimento.

Los resultados concuerdan con lo encontrado por Juniper <sup>96</sup> y Knowles <sup>29</sup> quienes no encontraron diferencia significativa entre la fuente de selenio administrada o los niveles de selenio administrado con la producción láctea.

### **7.6 Comparación por grupos**

Los animales que recibieron el bolo con el 0% de selenio son variaciones derivadas del status nutricional real de los animales naturales, la tendencia de la concentración del selenio en sangre, heces y leche siempre estuvo a la baja. Esto se asocia con la producción láctea ya que la producción de leche se considera una demanda importante del selenio y los demás constituyentes de leche (Figura 6).

Las repuesta de los bolos del 5% en los tres muestras es muy parecida a la variaciones del grupo testigo de esta forma se interpreta como una respuesta baja. Esto mismo se ha observado en las aplicaciones de bolos con iguales concentraciones en corderos en otros experimentos Blanco y Gutierrez (Figura 7)

La Figura 8 muestra el comparativo entre sangre, heces y leche de los animales con el tratamiento con el bolo al 10%.

### **7.7 Selenio en la reproducción**

En el ganado, la fertilidad ha mejorado con la suplementación de vitamina E y Se, como lo muestran los trabajos de Aréchiga *et al.*<sup>101</sup>, mientras que otros no han encontrado asociación entre las concentraciones de selenio del ganado y los parámetros de fertilidad. La incidencia de metritis y quistes ováricos ha disminuido en animales tratados con inyecciones de selenio y la incidencia de placenta retenida disminuyó cuando se administró selenio solo o en combinación con vitamina E<sup>40</sup>.

Harrison *et al.*<sup>102</sup> encontraron que la involución uterina fue mayor en vacas diagnosticadas con metritis y que no habían sido tratadas con selenio y vitamina E. Por otro lado en vacas que no cursaron con metritis no hubo diferencia entre las que recibieron selenio y vitamina E y las que no, en el presente trabajo tampoco se encontró diferencia significativa entre los tres tratamientos.



## **8 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

Los bolos fabricados con adhesivos de la construcción son un buen vehículo para la liberación de selenio a partir de selenito de sodio en el ganado de doble propósito.

El bolo con 10% de selenio mantuvo concentraciones superiores al resto de los tratamientos durante 120 días.

Los bolos intra-ruminales al 10% de Se resultaron comparativamente mejores que los de 5 y 0% de selenito de sodio como fuente para vacas lecheras del trópico.

El selenio liberado por los bolos en el rumen de las vacas también se manifestó en la leche, pero únicamente al día 15 post-administración del bolo con 10% de selenio.

Los bolos con selenio no modificaron la involución del útero, días abiertos, aparición de folículo mayor a 8mm, número de servicios ni de actividad ovárica.

Para prolongar la duración del bolo e incrementar los valores de selenio sanguíneo se sugiere la fabricación de los bolos con un peso de 20 gramos y contenido del 10% de selenio.

Bajo las condiciones del presente estudio la suplementación con selenio no modificó la producción láctea.

## 9 LITERATURA CONSULTADA

1. Schroeder JW. Use of minerals in dairy cattle. What they are and why they are important. North Dakota State University, NDSU Extension Service 2004.
2. McDowell LR. Minerals in animal and human nutrition. EE.UU: Academic Press, 1992.
3. Georgievskii VI, Annenkov BN, Samokhin VT. Mineral nutrition of animals. Reino Unido: Butterworths, 1982.
4. Corah L. Trace mineral requirements of grazing cattle. Anim Feed Sci Technol 1996;59:61-70.
5. Whitehead DC. Nutrient elements in grassland: soil-plant-animal relationship. Reino Unido: CABI Publishing, 2000.
6. McDowell LR, Valle G, Cristaldi L, Davis PA, Rosendo O, Wilkinson NS. Selenium availability and methods of selenium supplementation for grazing ruminants. Proceedings 13<sup>th</sup> annual Florida ruminant nutrition symposium; 2002 enero 11; Gainesville (Florida) EE.UU., 2002:86-102.
7. Lee J, Masters DG, White CL, Grace ND, Judson GJ. Current issues in trace element nutrition of grazing livestock in Australia and New Zealand. Aust J Agric Res 1999;50:1341-1364
8. Naylor JM, Ralston SL. Large animal clinical nutrition. EE.UU: Mosby Year Book, 1991.
9. Martin S. Chemistry: The Molecular Nature of Matter and Change. 4<sup>a</sup> ed. EE.UU.: McGraw-Hill, 2006.

10. Subcommittee on Selenium, Committee on animal nutrition. Selenium in nutrition, revised edition. National Research Council. EE.UU. 1983.
11. Franke, K.W. A new toxicant occurring naturally in certain samples of plant foodstuffs. I. Results obtained in preliminary feeding trials J Nutr 1934;8:597-608.
12. Underwood EJ, Suttle NF. The mineral nutrition of livestock 3a ed. Reino Unido: CABI International, 1999.
13. Aiello SE. El manual Merck de Veterinaria 5<sup>a</sup> ed. España: Océano/Centrum, 2000.
14. Chihuailaf RH. Contreras PA. Wittwer FG. Patogénesis del estrés oxidativo: Consecuencias y evaluación en salud animal. Vet Mex 2002;33:265-283.
15. Underwood EJ. Trace elements in human and animal nutrition. 4<sup>a</sup> ed. EE.UU.: Academic Press, 2000.
16. Strouth MK. Niveles de selenio en alfalfa y sangre de vacas Holstein y correlación entre niveles de selenio y glutatión peroxidasa (Tesis de maestría) México (DF) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 1985.
17. National guidelines and standards office. Canadian soil quality guidelines: selenium 2001.
18. Agency for toxic substances and disease registry. Selenium 2003.

19. Rojas LX, McDowell. Martin FG, Wilkinson NS. Estado mineral de suelos, pastos y Ganado de carne en el sureste de Venezuela. Síndrome parapléjico una revisión. *Zootecnia Trop* 1992;11:27-47.
20. Jukola E. Selenium, vitamin E, vitamin A and beta-carotene status of cattle in Finland with special reference to epidemiological udder health and reproduction data (tesis de licenciatura) Uppsala, Sweden: Swedish University of Agricultural Science, 1994.
21. Minson DJ. Forage in ruminant nutrition. EE.UU.: Academic Press, 1990.
22. Van Vleet JF. Current knowledge of Se-vitamin E deficiency in domestic animals. *J Am Vet Med Assoc* 1980;176: 321-325.
23. Fassbender W, Bornemisza. Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. 2ª ed. Costa Rica: IICA, 1987.
24. Ellis RD, Salt DE. Plants, selenium and human health. *Curr Opin Plant* 2003;6:273,279.
25. Leustek T, Martin MN, Bick JA, Davies JP. Pathways and regulation of sulfur metabolism revealed through molecular and genetic studies. *Plant Mol Biol* 2000;51:141-165.
26. Shaw WH, Anderson JW. Comparative enzymology of the adenosine triphosphate sulfurylase from spinach leaf tissue. 1974;139:37-42.
27. De Souza MP, Pilon-Smiths EAH, Lytle CM, Hwang S, Tai J, Honma TSU, *et al.* Rate-limiting steps in selenium assimilation and volatilization by Indian mustard. *Plant Physiol* 1998;117:1487-1494.

28. Brown TA, Shrift. Exclusion of selenium from proteins in selenium-tolerant *Astragalus* species. *Plant Physiol* 1981;67:1051-1053.
29. Knowles SD, Grace ND, Wurms K, Lee J. Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk and casein selenium concentrations in grazing cows. *J Dairy Sci* 1999;82:429-437.
30. Weiss WP. Selenium sources for dairy cattle. Tri-State Dairy Nutrition Conference; 2005 mayo 2-3; Fort Wayne (Indiana) EE.UU.:2005:61-71.
31. Czuczejk J, Zachara BA, Staubach-Topczewska E, Halota W, Kędziora J.1. Selenium, glutathione and glutathione peroxidases in blood of patients with chronic liver diseases. *Acta Biochim Pol* 2003;50:1147-1154.
32. Esaki N, Nakamura T, Tanaka H, Soda K. Selenocysteine lyase, a novel enzyme that specifically acts on selenocysteine. Mammalian distribution and purification and properties of pig liver enzyme. *J Biol Chem* 1982;257:4386-4391.
33. Tanaka H, Esaki N, Soda K. Selenocysteine metabolism in mammals. *Curr Top Cell Regul* 1985;27:487-495.
34. Köhrle J, Jacob F, Contempré B, Dumont JE. Selenium, the thyroid, and the endocrine system. *Endocr Rev* 2005;26:944-984.
35. Dodig S, Čepelak I. The facts and controversies about selenium. *Acta Pharm* 2004;54:261-276.
36. Leung FY. Trace elements that act as antioxidants in parenteral micronutrition. *J Nutr Biochem* 1998;9:304-307.

37. Neimann A, Sorensen DE. Production system approach. Países Bajos: Tribe editors in chief world animal science 1982.
38. Cheeke PR. Applied animal nutrition. Feeds and feeding. EE.UU.: MacMillan Publishing Company 1991.
39. Koller LD, Exon JH. The Two Faces of selenium - deficiency and toxicity are similar in animals and man. *Can J Vet Res* 1986;50:297-306.
40. Kommisrud E, Østerås O, Vatn T. Blood selenium associated with health and fertility in Norwegian dairy herds. *Acta vet scand* 2005;46:229-240.
41. Madeja Z, Sroka J, Nyström C, Björkhem-Bergman L, Nordman T, Damdimopoulos A, *et al.* The role of thioredoxin reductase activity in selenium-induced cytotoxicity. *Biochem Pharmacol* 2005;69:1765-1772.
42. Beckett GJ, Arthur JR. Selenium and endocrine systems. *J Endocrinol* 2005;184:455-465.
43. D'Mello JPF, Devendra C. Tropical legumes in animal nutrition. EE.UU. : CAB International, 1995.
44. Miller JK, Brzezinska SE. Oxidative stress, antioxidants and animal function. *J Dairy Sci* 1993;76:2812-2823.
45. Nockels CF. Antioxidants improve cattle immunity following stress. *Anim Feed Sci Technol* 1996;62:59-68.
46. Andresen SH. Vacas secas y en transición. *Rev Inv Vet Perú* 2001;12:36-48.

47. Köhrle J. The deiodinase family: selenoenzymes regulating thyroid hormone availability and action. *Cell Mol Life Sci* 2000;57:1853-1863.
48. Holben DH, Smith AM. The diverse role of selenium within selenoproteins: A review. *J Am Diet Ass* 1999;99:836-843.
49. Ganther HE. Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis* 1999;20:1657-1666.
50. Gromer S, Eubel JK, Lee BL, Jacob J. Human selenoproteins at a glance. *Cell Mol Life Sci* 2005;62:2414-2437.
51. Petit N, Lescure A, Rederstorff M, Krol A, Moghadaszede B, Wewer U, Guicheney P. Selenoprotein N: an endoplasmic reticulum glycoprotein with an early developmental expression pattern. *Hum Mol Genet* 2003;12:1045-1053.
52. Rederstorff M, Krol A, Lescure A. Understanding the importance of selenium and selenoproteins in muscle function. *Cell Mol Life Sci* 2006;63:52-59.
53. Richardson DR. More roles for selenoprotein P: local selenium storage and recycling protein in the brain. *Biochem J* 2005;386:e5-e7.
54. Moster V. Selenoprotein P: properties, functions, and regulation. *Archives of biochemistry and biophysics* 2000;376:433-438.
55. Schweizer U, Streckfuss F, Pelt, P, Carlson BA, Hatfield DL, Köhrle J, Schomburg, L. Hepatically derived selenoprotein P is a key factor for kidney but not for brain selenium supply. *Biochem. J* 2005;386:221–226.

56. Burk RF, Hill KE, Motley AK. Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P. *J Nutr* 2003;133:1517S-1520S.
57. Saito Y, Takahashi K. Characterization of selenoprotein P as a selenium supply protein. *Eur J Biochem* 2002;269:5746-5751.
58. Whanger PD. Selenoprotein W: a review. *Cell Mol Life Sci* 2000;57:1846-1852.
59. National Research Council NRC. Nutrient requirements of dairy cattle 7<sup>a</sup> ed. Subcommittee on dairy cattle nutrition, Committee on animal nutrition. National Academy Press 1989.
60. McDowell LR, Valle G, Cristaldi L, Davis O, Wilkinson NS. Selenium availability and methods of selenium supplementation for grazing ruminants. Proceedings 13<sup>th</sup> annual Florida ruminant nutrition symposium; 2002 enero 11; Gainesville, (Florida) EE.UU., 2002: 86-102.
61. Kuchel RE, Buckley RA. The provision of selenium to sheep by means of heavy pellets. *Aust J Agric Res* 1969;20:1099-1107.
62. Kendall NR, Mackenzie AM, Telfer SB. Effect of a copper, cobalt and selenium soluble glass bolus given to grazing sheep. *Livest Prod Sci* 2001;68:31-39.
63. Blanco OM, Spross SK, Rosiles MR. Evaluación de comprimidos intrarruminales de selenio por concentración sanguínea y lanar de corderas semiestabuladas. *Vet Mex* 2000;31:121:127.



64. Rosiles MR, Gutiérrez OC, Váldez AR. Liberación de selenio in vitro a partir de bolos minerales con cuatro tipos de cemento adhesivo y en pH de 7.0, 6.5, 6.0 y 5.5. *Vet Mex* 1998;29:257-261.
65. Gaytan SG. Comparación de la biodisponibilidad de selenito de sodio y de selenio orgánico en bolos intrarruminales de lenta liberación en ganado ovino (tesis de maestría). Cuautitlán (Estado de México) México: Facultad Estudios Superiores Cuautitlán, 2005.
66. Washington State University. Cooperative extension Fact Sheet # 1012-2003 Trace Element Deficiencies in Ruminants. EE.UU. (Washington):WSU, 2003.
67. Amaral-Phillips DM. Harmon RJ. Using Nutrition to Improve Immunity against. Disease in Dairy Cattle: Copper, Zinc, Selenium, and Vitamin E. Cooperative extension service. University of Kentucky College of agriculture 1999.
68. Swecker, W. S. 1990. Selenium Supplementation and Selected Immune Responses of Beef Cattle. PhD Dissertation. Department of Veterinary Medicine, Virginia Polytechnic Institute, Blacksburg, VA 24061.
69. Hampel, G., K. Wantanabe, B. Weksler, and E. A. Jaffe. 1989. Selenium deficiency inhibits prostacyclin release and enhances production of platelet activating factor by human endothelial cells. *BBA* Volume 1006, Issue 2.
70. Smith KL, Hogan JS, Weiss WP. Dietary vitamin E and selenium affect mastitis and milk quality. *J Anim Sci* 1997;75:1659-1665.

71. López AM, Miranda M, Hernández J, Castillo C, Benedito JL. Glutati6n peroxidasa (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en rumiantes. Arch med vet 1997;29:171-180.
72. Ammerman CB, Miller SM, McDowell LR, Zometa CA. El selenio en la nutrici6n de los rumiantes. Memorias del simposio latinoamericano sobre investigaciones en nutrici6n mineral de los rumiantes en pastoreo; 1976 marzo 22-26; Belo Horizonte (Minas Gerais) Brasil, 1976:106-114.
73. Ramírez BJ, Tórtora JL, Huerta M, Aguirre A, Hernández LM. Diagnosis of selenium status in grazing dairy goats on the Mexican Plateau. Small Rum Res 2001;41:81-85.
74. Ramírez BJ, Tórtora JL, Hernández LM, Huerta M. Main causes of mortalities in dairy goat kids from the Mexican Plateau. Small Rum Res 2001;41:77-80.
75. Guerrero BL. Interrelaci6n de selenio y cobre en lana de ovino y suelo de Coajomulco y Tres Marías (tesis de licenciatura) México (D.F.) México: FMVZ, UNAM, 1995.
76. Espinosa JL. Estudio comparativo de las concentraciones de selenio en suelo, forraje y sangre de bovinos clínicamente sanos; bajo condiciones de pastoreo en el trópico húmedo y altiplano mexicano (tesis de licenciatura). México (D.F.) México: FMVZ, UNAM, 2004.
77. Kincaid, R.L. Assessment of trace mineral status of ruminants: A review. Proceedings of American Society of Animal Science; 1999 julio 21-23 Indianapolis (Indiana) EE.UU., 1999:1-10.
78. Maas J, Galey F, Peuroi JR, Case JT, Littlefield ES, Gay CC, *et al.* The correlation between serum selenium and blood selenium in cattle.

79. Waldner C, Campbell J, J GK, Guichon PT, Booker C. Comparison of 3 methods of selenium assessment in cattle. *Can Vet J* 1998;39:225-231.
80. Stowe HD, Herdt TH. Clinical Assessment of Selenium Status of Livestock. *J Anim Sci* 1992;70:3928-3933.
81. García E. Modificaciones al sistema de clasificación climático Köeppen. 4ª ed. México: Ed. Indianápolis 1988.
82. Perkin Elmer: Atomic absorption spectroscopy. Analyst 100 atomic absorption spectrometer; user's guide. EE.UU. 1996.
83. Gutierrez OC, Spross SK, Rosiles MR, Ducoing WA, Ortiz HA. Selenio sanguíneo y fecal en ovinos a partir de comprimidos inorgánicos intrarruminales. *Vet Mex* 2005;36:313-323.
84. Puls R. Mineral levels in animal health: Diagnostic data. 2ª ed. Serpa Internacional. Canadá 1994.
85. Bakonyi T, Radak Z. High altitude and free radicals. *J Sport Sci Med* 2004;3:64-69.
86. Chao W, Askew EW, Roberts DE, Word SM, Perkins JB. Oxidative stress in humans during work at moderate altitude. *J Nutr* 1999;129:2009-2012.
87. Rosiles MR, Aguilar AM, Ramírez LJ. Deficiencia de selenio en un hato de bovinos que sufren del síndrome de mal de altura de Ixtlahuaca, Estado de México. *Vet Mex* 1997;28:55-57.

88. Sprinkle JE, Cuneo SP, Frederick HM, Enns RM, Schafer DW, Carstens GE, *et al.* Effects of a long-acting, trace mineral, reticulorumen bolus on range cow productivity and trace mineral profiles. *J Anim Sci* 2006;84:1439-1453.
89. Hemingway RG, Parkins JJ, Ritchie NS. Sustained-release boluses to supply trace elements and vitamins to calves. *Vet J* 1997;153:221-224.
90. Amador GE. Desarrollo de un bolo intra-ruminal para la liberación prolongada de yodo y selenio y su evaluación en ganado bovino (tesis de maestría). Cuautitlán (Estado de México) México: Facultad Estudios Superiores Cuautitlán, 2005.
91. Zervas G. Treatment of dairy sheep with soluble glass boluses containing copper, cobalt and selenium. *Anim Feed Sci technol* 1988;19:79-83.
92. Zervas G, Telfer SB, Carlos G, Anderson P. The effect of soluble-glass boluses containing copper, cobalt and selenium on the blood composition of ewes. *Anim Feed Sci technol* 1988;21:23-29.
93. Travnicek J, Pisek L, Herzig I, Doucha J, Kvicala J, *et al.* Selenium content in the blood serum and urine of ewes receiving selenium-enriched unicellular alga *Chlorella*. *Vet Med (Praha)* 2007;52:42-48.
94. Gurgodan F, ILDIS A, Balikci E. Investigation of serum Cu, Zn, Fe and Se concentrations during pregnancy (60, 100 and 150 days) and after parturition (45 days) in single and twin pregnant sheep. *Turk J Vet Anim Sci* 2006;30:61-64.

95. Gant RG, Sanchez W, Kincaid RL. Effect of anionic salts on selenium metabolism in nonlactating pregnant dairy cows. *J Dairy Sci* 1998;81:1637-1642.
96. Juniper DT, Phipps Rh, Jones AK, Bertin G. Selenium supplementation of lactating dairy cows: effect on selenium concentration in blood, milk, urine, and feces. *J Dairy Sci* 2006;89:3544-3551.
97. Debski B, Krynski A, Skrzymowska. Selenium concentration in musk rat, hare, cow tissues and in cow's milk, as an indicator of its status in local ecosystem. *Memorias XIIth International Congress on Animal Hygiene; 2005 septiembre 4-8; Varsovia Polonia: International Society for Animal Hygiene, 2005:442-445.*
98. Pehrson B, Ortman K, Madrid N, Trafikowska U. The influence of dietary selenium as selenium yeast or sodium selenite on the concentration of selenium in the milk of suckler cows and on the selenium status of their calves. *J Anim Sci* 1999;77:3371-3376.
99. Al-Awadi FM, Srikumar TS. Trace elements and their distribution in protein fractions of camel milk in comparison to other commonly consumed milks. *J Dairy Res* 2001;68:463-469.
100. Muñiz NO, Domínguez GR, Bermejo BA, Cocho JJ, Fraga BJ, Goris PA, *et al.* Selenium content and distribution in cow's milk supplemented with two dietary selenium sources. *J Agric Food Chem* 2005;53:9817-9822.
101. Aréchiga CF, Vázquez FS, Ortiz O, Hernández CJ, Porrás A, McDowell LR, *et al.* Effect of injection of beta-carotene or vitamin E and selenium on fertility of lactating cows. *Theriogenology* 1998;50:65-67.

102. Harrison JH, , Hancock DD, St. Pierre N, Conrad HR, Harvey WR. Effect of prepartum selenium treatment on uterine involution in the dairy cow. *J Dairy Sci* 1986;69:1421-1425.
103. Sanz AM , Díaz RC. Selenium concentration in milks. *Food Chem* 1994; 52:1-18.

---

**Cuadro 1****Selenoproteínas en mamíferos y sus funciones**

---

<b>Selenoproteína</b>	<b>Función Propuesta</b>
<b>Selenoproteína</b>	
<b>Glutación Peroxidasa (GSH-Px)</b>	
GSH-Px1	Antioxidante en citosol; ¿Almacenamiento de selenio?
GSH-Px2	Antioxidante en el tracto digestivo
GSH-Px3	Antioxidante en espacio celular y plasma
GSH-Px4	Antioxidante de la membrana; Proteína estructural de los Espermatozoides; ¿Apoptosis?
GSH-Px4	Antioxidante de membrana; Proteína estructural del espermatozoide;
GSH-Px5	Desconocido
GSH-Px6	¿Homóloga de la GSH-Px1?
<b>Tioredoxin reductasa (TRs)</b>	
	Múltiples papeles que incluyen ditiol-disulfuro oxoreductasa; detoxificación de peróxidos, reducción de tioredoxin (control del crecimiento celular); mantiene el estado de reducción de los factores de transcripción.
TR1	Principalmente citosólica, ubicua.
TR2	Expresada por los testículos
TR3	Mitocondrial, ubicua.
<b>Yodotironina deiodinasas</b>	
Tipo D1 y D2	Convierte tiroxina (T4) a la forma activa 3,5,3-triyodotironina (T3).
Tipo D1 y D3	Convierte tiroxina (T4) a la forma activa 3',3',5' reversa T3.
<b>Selenoproteína P</b>	
	Proteína de transporte de selenio. Antioxidante en el endotelio.
	Reducción de proteínas.
<b>Selenoproteína W</b>	
	¿Antioxidante en el músculo cardíaco y esquelético?
<b>Selenofosfato sintetasa (SPS2)</b>	
	Síntesis de selenofosfato para síntesis de selenoproteínas.
<b>Selenoproteína 15kDa (Sep 15)</b>	
	¿Protección contra el cáncer?
<b>H, I, K, M, N, O, R, S, T, V.</b>	
	Funciones principales desconocidas.

---

Tomado de Beckett<sup>42</sup>

**Cuadro 2**  
**Liberación de selenio (ng/bolo) in vitro a partir de bolos con  
distintas mezclas de adhesivos de la construcción.**

<b>DÍAS</b>	<b>BOLO 1</b>	<b>BOLO 2</b>	<b>BOLO 3</b>	<b>BOLO 4</b>	<b>BOLO 5</b>	<b>BOLO 6</b>	<b>BOLO 7</b>	<b>BOLO 8</b>	<b>BOLO 9</b>
<b>1</b>	37.3	27.64	39.86	41.71	47.54	45.96	52.16	47.63	47.72
<b>4</b>	1.07	0.37	0.98	3.43	10.99	20.8	30.61	30.79	35.23
<b>8</b>	0.65	0.4	0.55	1.49	4.11	5.44	7.42	7.92	7.18
<b>12</b>	0.85	0.5	0.75	0.99	3.37	4.06	5.64	5.69	4.95
<b>16</b>	0.13	NSD*	0.01	0.05	2.2	2.03	2.41	3.13	2.66
<b>44</b>	0.18	0.16	0.44	0.8	4.47	5.72	8.37	11.6	5.03
<b>Total</b>	40.2	29.07	42.6	48.47	72.7	84.01	106.6	106.76	102.8

\*No se detecto a más de 0.003 ng



**Cuadro 3**  
**Segundo ensayo de liberación *in vitro* de selenio**  
**(ng/bolo) de las mezclas 5, 6 y 7.**

<b>DÍAS</b>	<b>MEZCLA 5</b>	<b>MEZCLA 6</b>	<b>MEZCLA 7</b>
<b>1</b>	21.22	21.86	22.45
<b>4</b>	4.74	6.78	7.4
<b>8</b>	2.75	4.32	6.03
<b>TOTAL</b>	28.71	32.96	35.88

**Cuadro 4**  
**Elementos minerales ( $\mu\text{g/g}$ ) en la mezcla de adhesivos de la construcción (mezcla 7)**  
**utilizada para la fabricación de bolos ruminales.**

<b>As</b>	<b>S</b>	<b>Ca</b>	<b>Cu</b>	<b>P</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Hg</b>	<b>K</b>	<b>Se</b>	<b>Na</b>	<b>Zn</b>
NSD*	NSD	62896	NSD	NSD	2069	928	NSD	563	NSD	2567	178

\*NSD: No se detectó a más de  $1\mu\text{g/g}$

**Cuadro 5**  
**Valores de selenio en sangre**  
**completa de vacas del trópico**  
**en pastoreo**

<b>Muestra</b>	<b>ng/g</b>
1	49.4
2	38.4
3	53.4
4	56.5
5	54.4
6	54.7
7	52.4
8	42.7
9	48.4
10	47.2
11	73.5
12	46.6
Media	51.47

Cuadro 6

## Concentraciones de selenio (ng/g) en sangre completa de vacas del trópico mexicano.

Bolo	Muestreo	Día 0*	Día 5	Día 15	Día 30	Día 60	Día 120	Día 180	Día 240
0%	Media	15.87	8.86Aabc	15.33Aabc	18.77Ac	14.96Aabc	17.00Abc	7.66Aab	6.82Aa
	EE	9.09	6.53	4.8	10.57	3.9	8.53	4.67	4.21
5%	Media	20.24	5.62Aa	16.60Aab	12.36Aa	23.45ABb	13.51Aab	7.75Aa	13.66Aab
	EE	12.94	6.17	3.21	6.27	8.16	8.5	5.1	10.55
10%	Media	28.03	21.39Bb	31.12Bbc	34.98Bc	24.73Bb	26.85Bbc	9.21Aa	10.80Aa
	EE	17.25	10.58	13.35	8.02	11.13	7.88	6.47	9.24
<b>Total</b>	Media	21.38	11.96	20.68	22.03	21.05	19.12	8.20	10.43

\* Las concentraciones del día 0 fueron tomadas como covariables

Literales mayúsculas diferentes por columna indican diferencia estadística entre tratamientos por día de muestreo (P<0.05)

Literales minúsculas diferentes por renglón indican diferencia estadística entre días de muestreo del mismo tratamiento (P<0.05)

Cuadro 7

## Concentraciones de selenio (ng/g) en heces de vacas del trópico mexicano.

<b>Bolo</b>	<b>Muestreo</b>	<b>Día 0*</b>	<b>Día 5</b>	<b>Día 15</b>	<b>Día 30</b>	<b>Día 60</b>	<b>Día 120</b>	<b>Día 180</b>	<b>Día 240</b>
<b>0%</b>	Media	23.05	24.18Bcd	33.81Ad	17.52Bbc	32.69Ad	6.50Aab	3.41Aa	9.40Aab
	EE	5.91	17.07	6.71	27.96	5.65	3.26	2.45	1.66
<b>5%</b>	Media	16.14	8.58Aa	27.55Ab	1.27Aa	33.59Ab	5.54Aa	0.55Aa	21.47Ab
	EE	7.44	7.23	4.49	1.13	9.96	2.55	0.56	22.66
<b>10%</b>	Media	19.66	19.66ABc	34.00Ad	5.70ABab	34.11Ad	14.60Abc	1.01Aa	9.89Aabc
	EE	4.28	9.53	6.04	8.95	2.15	2.16	1.39	2.89
<b>Total</b>	Media	19.62	17.47	31.79	8.16	33.46	8.88	1.66	13.59

\* Las concentraciones del día 0 fueron tomadas como covariables

Literales mayúsculas diferentes por día indican diferencia estadística entre tratamientos (P<0.05)

Literales minúsculas diferentes por tratamiento indican diferencia estadística entre días de muestreo (P<0.05)

Cuadro 8

## Concentraciones de selenio (ng/g) en leche de vacas del trópico mexicano.

<b>Bolo</b>	<b>Muestreo</b>	<b>Día 0*</b>	<b>Día 5</b>	<b>Día 15</b>	<b>Día 30</b>	<b>Día 60</b>	<b>Día 120</b>	<b>Día 180</b>
<b>0%</b>	Media	11.95	2.01Aa	34.81Bb	1.16Aa	5.80Aa	8.98Aa	0.47Aa
	EE	6.33	1.58	14.78	1.11	2.36	2.17	0.55
<b>5%</b>	Media	5.54	6.87Aab	17.97Ab	0.88Aa	7.40Aab	7.11Aab	7.15Aab
	EE	0.7	12.04	15.46	0.49	1.89	0.72	7.03
<b>10%</b>	Media	6.33	3.83Aa	58.29Cb	4.06Aa	6.03Aa	7.15Aa	2.02Aa
	EE	1.28	2.62	40	1.29	1.44	1.69	1.84
<b>Total</b>	Media	7.20	4.24	37.02	2.04	6.41	7.74	3.21

\* Las concentraciones del día 0 fueron tomadas como covariables

Literales mayúsculas diferentes por día indican diferencia estadística entre tratamientos (P<0.05)

Literales minúsculas diferentes por tratamiento indican diferencia estadística entre días de muestreo (P<0.05)

Cuadro 9

## Producción de leche en vacas del trópico mexicano.

<b>Bolo</b>	<b>Muestreo</b>	<b>Día 0*</b>	<b>Día 5</b>	<b>Día 15</b>	<b>Día 30</b>	<b>Día 60</b>	<b>Día 120</b>	<b>Día 180</b>
<b>0%</b>	Media	13.6	11.68Abc	13.40Ac	12.16Abc	10.52Abc	9.08Ab	5.64ABa
	EE	0.68	0.58	0.67	0.61	0.53	0.45	0.28
<b>5%</b>	Media	15.4	14.60Ac	15.68Ac	14.00Ac	12.16Abc	9.72Ab	5.04Aa
	EE	0.77	0.73	0.78	0.7	0.61	0.49	0.25
<b>10%</b>	Media	10.5	10.75Ab	11.25Ab	9.70Aab	9.40Aab	7.90Aa	7.35Ba
	EE	0.53	0.54	0.56	0.49	0.47	0.4	0.37
<b>Total</b>	Media	13.07	12.27	13.29	11.87	10.64	8.51	5.72

\* Las concentraciones del día 0 fueron tomadas como covariables

Literales mayúsculas diferentes por día indican diferencia estadística entre tratamientos (P<0.05)

Literales minúsculas diferentes por tratamiento indican diferencia estadística entre días de muestreo (P<0.05)

**Cuadro 10**  
**Parámetros reproductivos de vacas lecheras del trópico**  
**suplementadas con selenio a partir de bolos intra-ruminales.**

<b>Bolo % Selenio</b>	<b>DIU</b>	<b>DAO</b>	<b>F 8mm</b>	<b>NS</b>	<b>DA</b>
0	42.2	55.4	17.2	0.8	83.33
5	40.8	34.4	19	1.6	85.33
10	44	47.6	13.2	1.6	96.6

DIU= Días involución uterina; DAO= Días actividad ovárica; F 8mm = Folículo mayor a 8mm;

NS= Número de servicios; DA= Días abiertos



Cuadro 11  
**Valores de selenio (n/g) en leches de vaca**

Locación Geográfica	Año	Método de Medición	Media (min-max)	Nº	Descripción	Referencia
EUROPA						
Finlandia	1977	HG-AAS*	7.89 ± 1.2	16	Vacas lecheras	Varo y Koivistoinen (1981)
	1977		3.48 (3.48-4.64)	6	Vacas lecheras (estandarizadas)	
	1980		8.12 (6.96-9.28)	6	Vacas lecheras (sin tratar)	
Alemania (Düsseldorf)	1976	INAA†	10.2 ± 2.55 (7.8-12.9)	3	Vacas lecheras	Lombeck <i>et al.</i> (1977)
Alemania (Düsseldorf)	1978	INAA	23.2 (16.2-35.2)	45	Vacas lecheras	Lombeck <i>et al.</i> (1978)
Alemania	1986	-	(6.8-7.2)	-	Vacas lecheras	Oster <i>et al.</i> (1986)
Noruega (Oslo)	1979	SPF‡	10.6 (7.7-11.6)	13	Vacas lecheras	Karlsen <i>et al.</i> (1981)
Noruega	1983	EAAS§	10.1 ± 2.5 (7.2-15.3)	10	Vacas	Norheim <i>et al.</i> (1983)
Holanda	1973	INAA	7.6 ± 0.82 (7.5-13.3)	5	Tipo suelo arcilla marina	Binnerts (1979)
			3.9 ± 0.30 (3.4-5.45)	5	Tipo suelo arena y turba	
			5.1 ± 0.63 (5.2-7.54)	6	Tipo suelo mezclado	
	1989	SPF	16.5 ± 1.3 (14.5-18.4)	7	Leche invierno	Koops <i>et al.</i> (1989)
	EAAS	15.5 (14.5-17.4)	7	Leche verano		
	SPF	10.3 ± 0.5 (9.7-10.6)	7			
	EAAS	9.7 (7.7-13.5)	7			
AMERICA						
Canada (Columbia B.)	1979	SPF	28 	8	Vacas Holstein	Fisher <i>et al.</i> (1980)
EE.UU. (FL)	1980	-	(8-13)	-	Ganado cárnico suplemento de Se	Ammerman <i>et al.</i> (1980)
EE.UU. (IL)	1987	GC-ECD‡	9.6 ± 0.4	10	Vacas Holstein (leche entera)	Debski <i>et al.</i> (1987)
			9.5 ± 0.3	10	Vacas Holstein (leche desnatada)	
			7.3 ± 0.3	10	Vacas Holstein (leche dializada)	

Cuadro 11 continuación						
EE.UU. (IN)	1977	-	(14-23)		Vacas Hereford suplemento de Se 2-3 días postparto	Perry <i>et al.</i> (1977)
			(16-21)	-	Vacas Hereford suplemento de Se 3 meses postparto	
EE.UU. (OH)	1978	SPF	8 ± 1.9	5	Vacas Jersey y Holstein	Conrad y Moxon (1979)
EE.UU. (OH)	1981	-	5	-	Ganado cárnico	Moxon (1981)
EE.UU. (OH)	1977	SPF	64 ± 13	8	Vacas lecheras	Olson y Palmer (1984)
EE.UU. (SD)			(45-80)		(diciembre)	
	1978		53 ± 20	8	Vacas lecheras	
			(32-88)		(enero)	
			46 ± 7	8	Vacas lecheras	
			(36-58)		(mayo)	
			64 ± 10	8	Vacas lecheras	
			(54-80)		(septiembre)	
			78 ± 27	8	Vacas lecheras	
			(61-138)		(diciembre)	
ASIA						
India (bombay)	1987	INAA CG- ECD <sup>†</sup>	1.5 ± 3	-	Vacas lecheras	Sigh y Sawant (1987)
Japón	1980		(21-27) Ser (12-17) Se (VI)	3	Vacas lecheras	Tōei y Shimoishi (1981)
Japón	1981	-	64	-	Vacas lecheras	Munnehiro <i>et al.</i> (1981)
Japón (Kioto)	1982	SPF	23	-	Vacas lecheras	Hojo (1982)
Japón	1990	SPF	17.4 ± 3.6	13	-	Tamari <i>et al.</i> (1990)
OCEANIA						
Australia Nueva Zelanda	1982	SPF	16 <sup>¶</sup>	4	Leche cruda	Koh y Benson (1983)
	1980	SPF	7.2	-	-	Grant (1981)

\* Espectrometría de absorción atómica por generación de hidruros

† Análisis instrumental de activación de neutrones

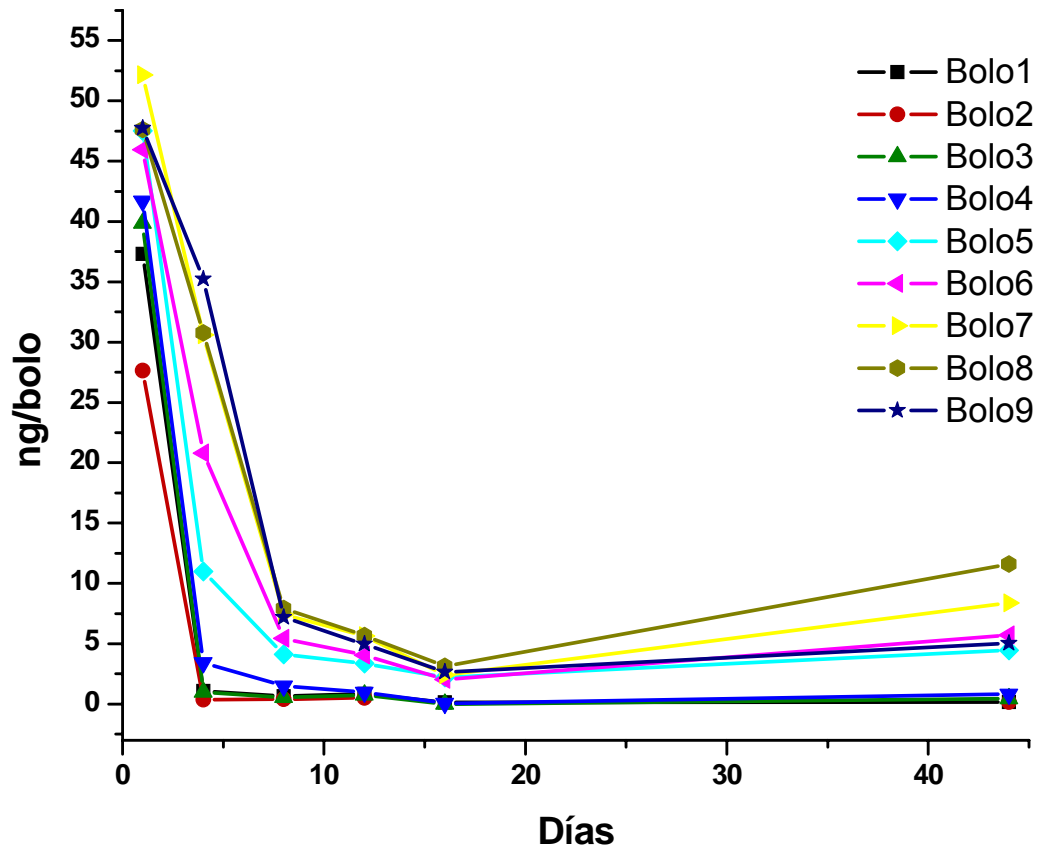
‡ Fluorometría

§ Espectrometría electrotérmica de absorción atómica

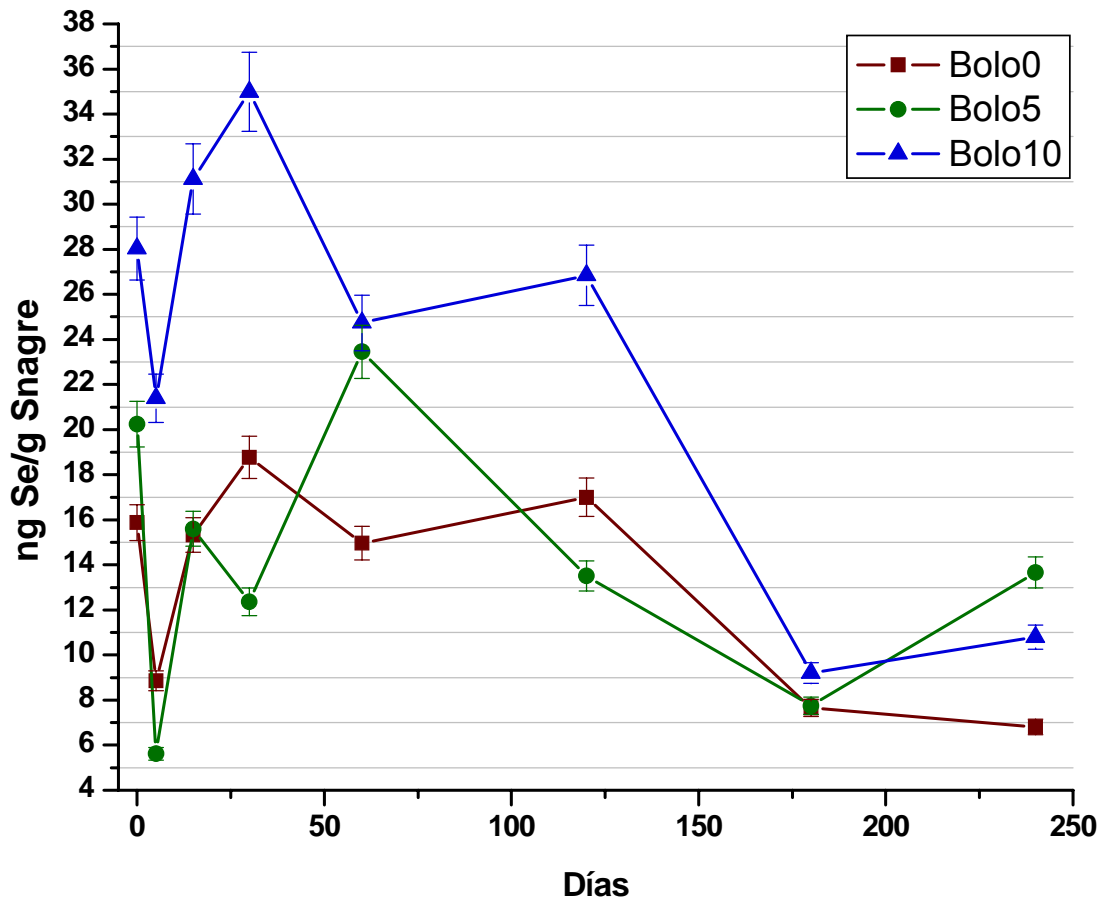
‡ Cromatografía de gases con detector de captura de electrones

¶ μmolsXP.A.=ng/ml

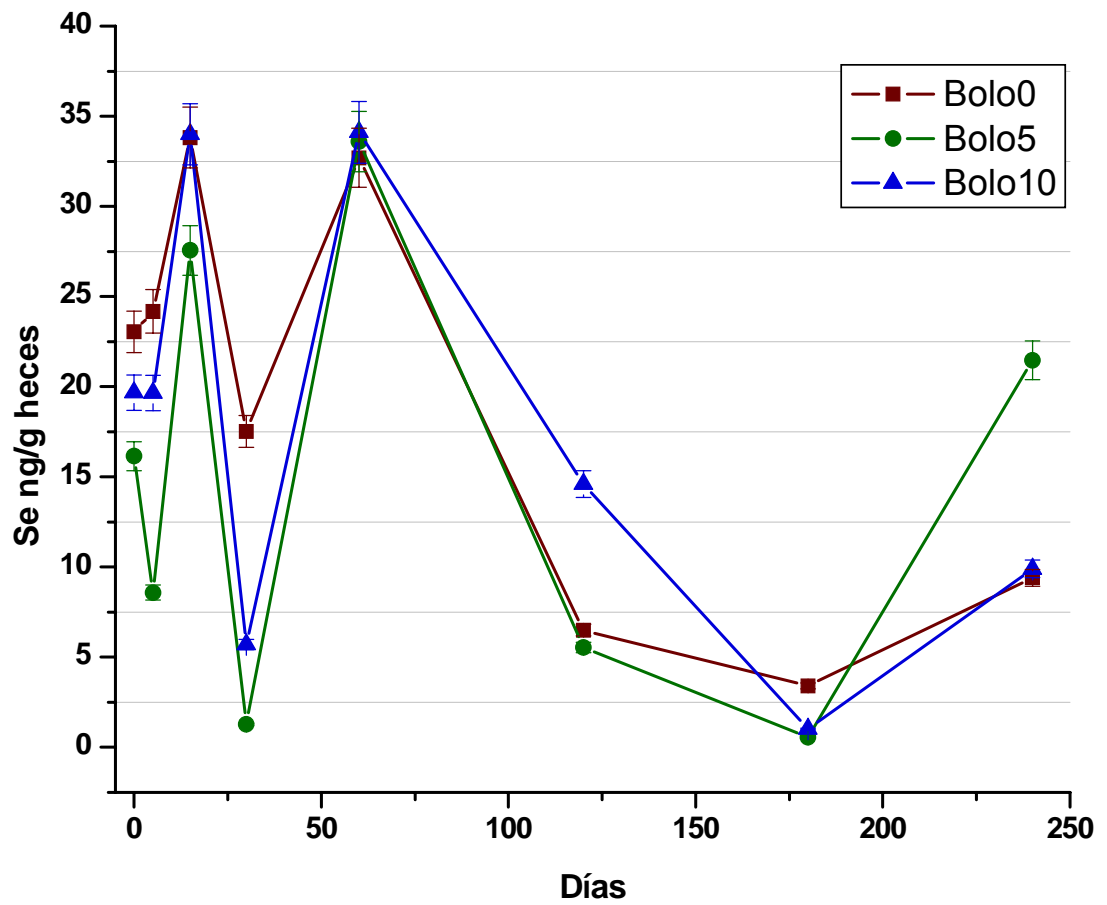
Tomado de: Sanz <sup>103</sup>.



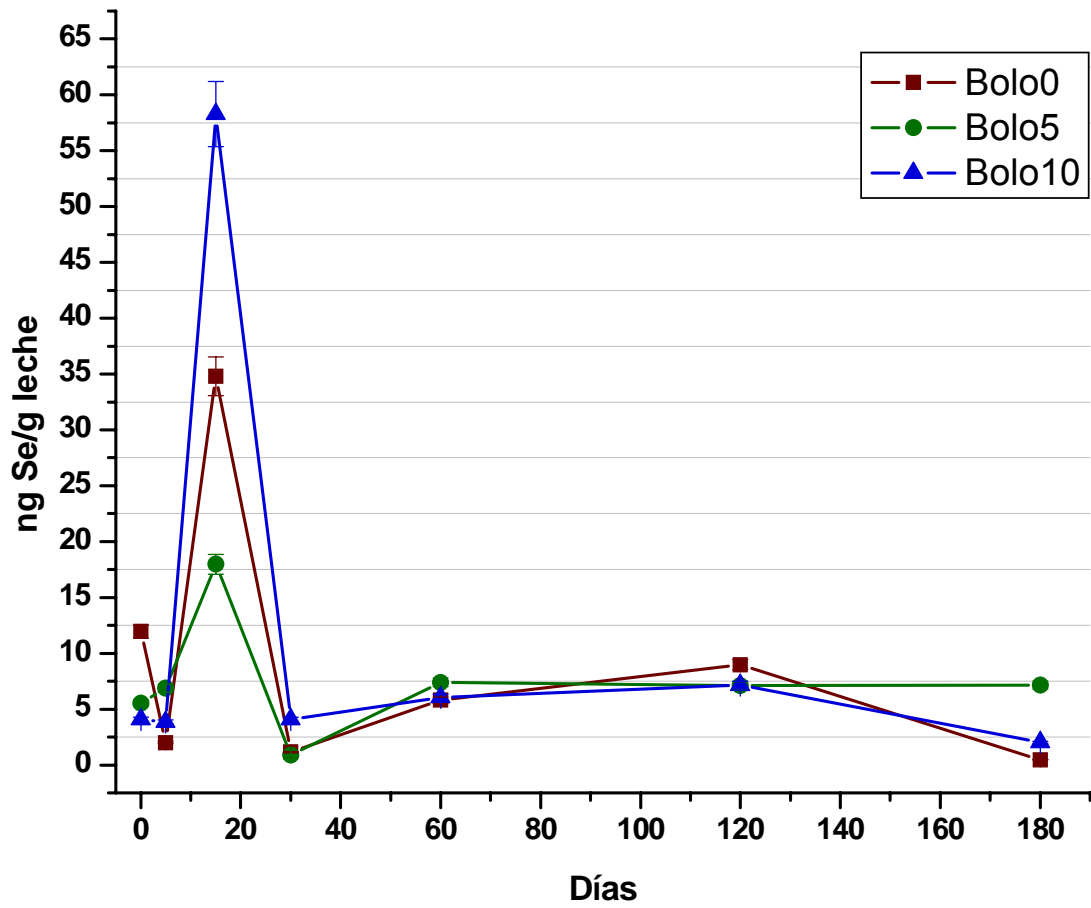
**FIGURA 1:** Liberación de selenio in vitro a partir de bolos con diferentes adhesivos de la construcción.



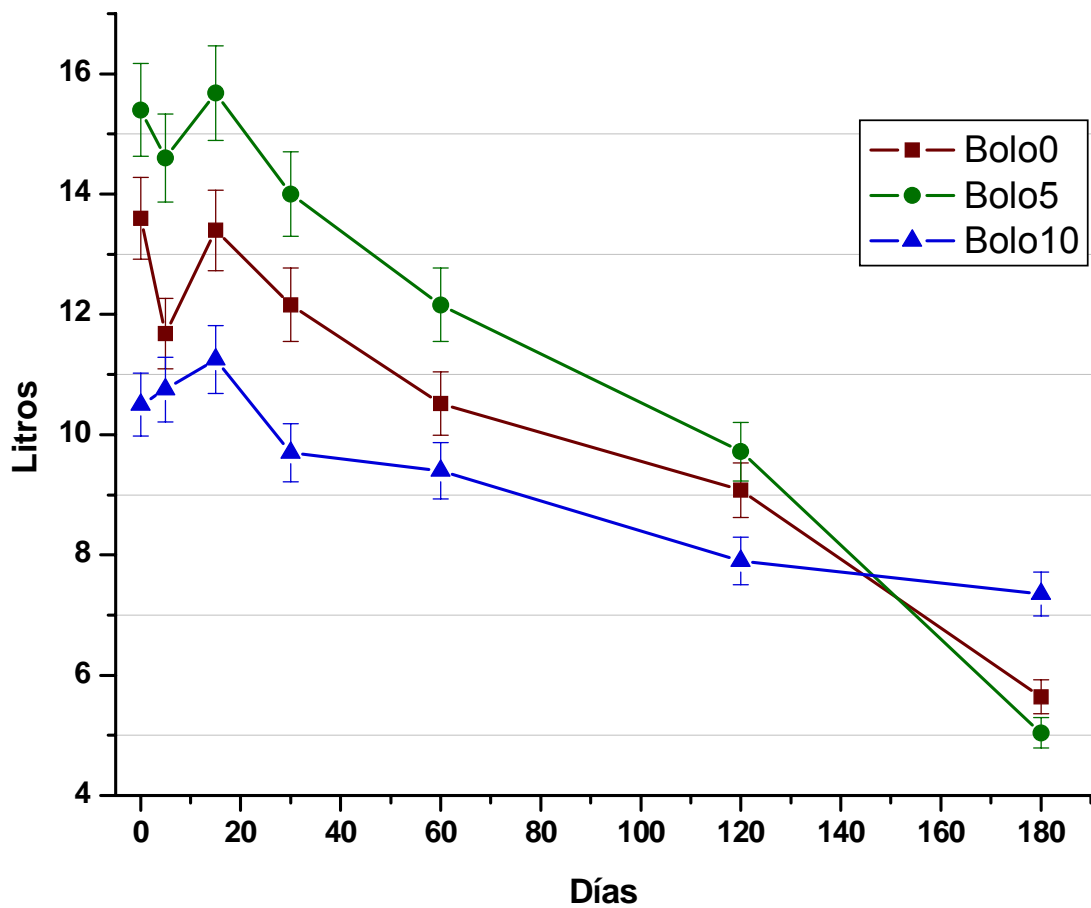
**FIGURA 2:** Concentración de selenio por gramo de sangre en vacas lecheras del trópico suplementadas con bolos intra-ruminales.



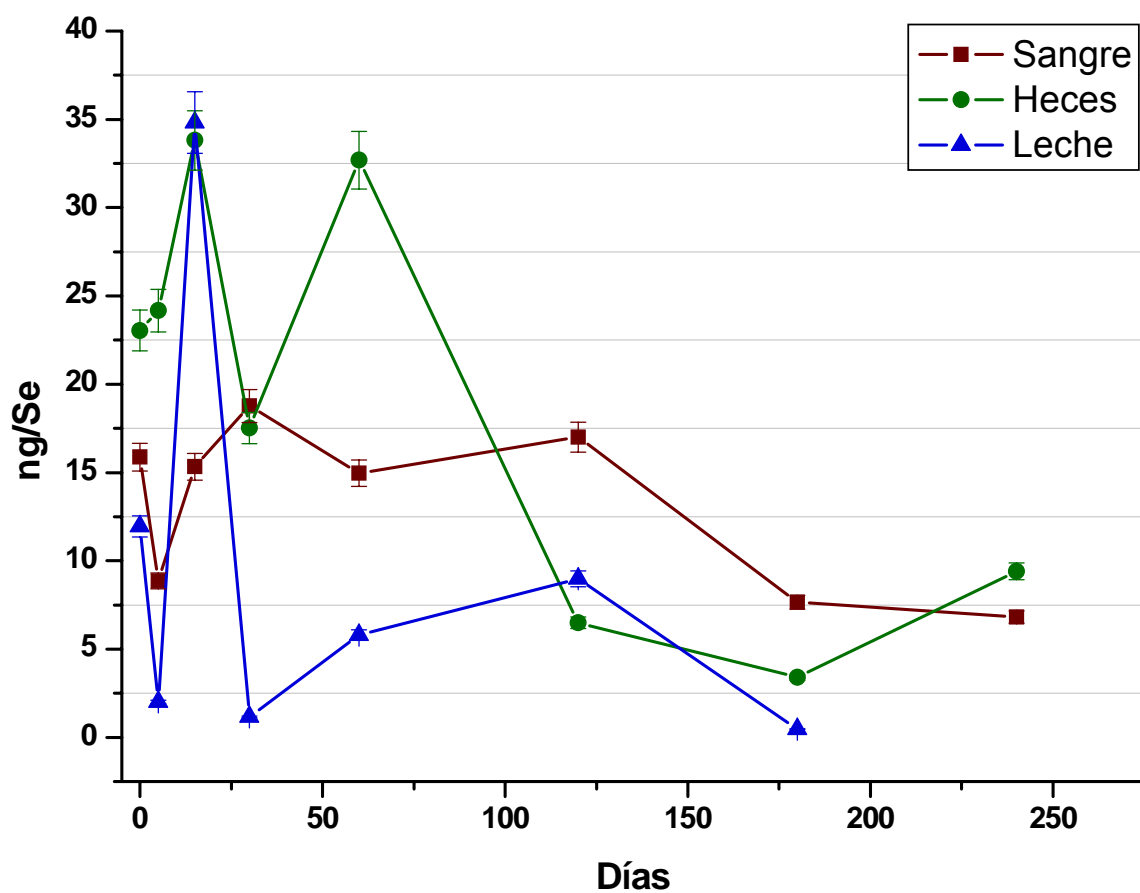
**FIGURA 3:** Concentración de selenio por gramo de heces en vacas lecheras del trópico suplementadas con bolos intra-ruminales.



**FIGURA 4:** Concentración de selenio por gramo de leche en vacas lecheras del trópico suplementadas con bolos intra-ruminales.

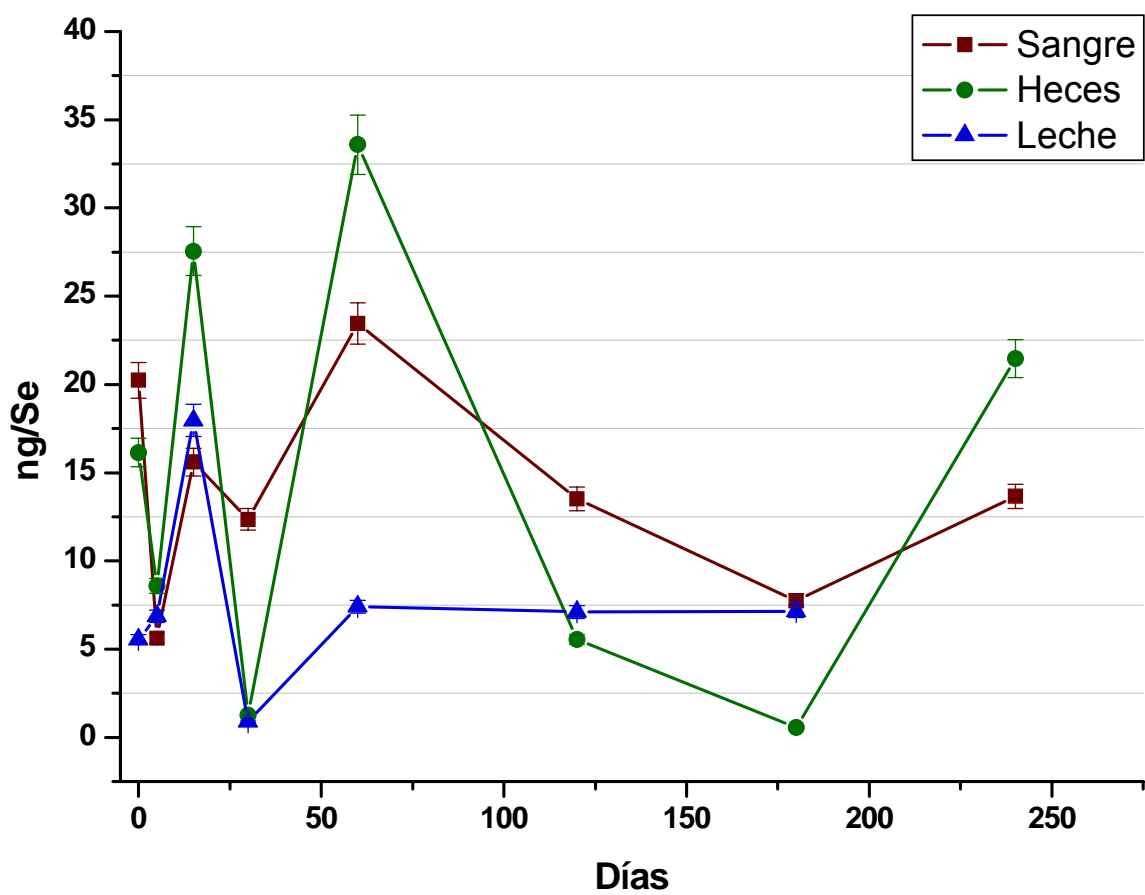


**FIGURA 5:** Producción láctea en vacas lecheras del trópico suplementadas con bolos intra-ruminales.

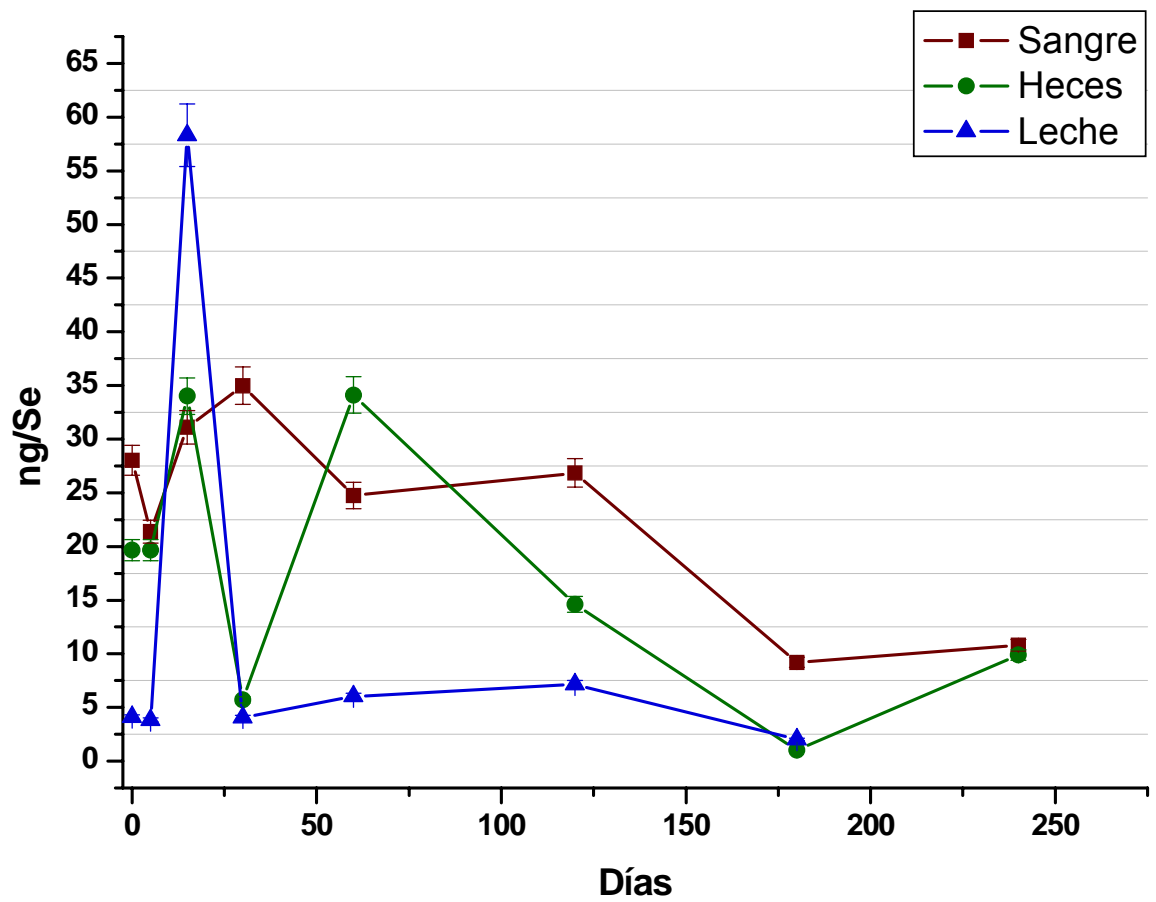


**FIGURA 6:** Concentraciones de selenio en sangre, heces y leche, en vacas que recibieron el bolo al 0%.





**FIGURA 7:** Concentraciones de selenio en sangre, heces y leche, en vacas que recibieron el bolo al 5%.



**FIGURA 8:** Concentraciones de selenio en sangre, heces y leche, en vacas que recibieron el bolo al 10%.