



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

**FUNCIÓN FISIOLÓGICA DEL SELENIO SUPLEMENTADO COMO SELENITO
DE SODIO Y SELENOMETIONINA EN CORDEROS**

ROSY GABRIELA CRUZ MONTERROSA

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. MÉXICO.

2008

La presente tesis titulada “FUNCIÓN FISIOLÓGICA DEL SELENIO SUPLEMENTADO COMO SELENITO DE SODIO Y SELENOMETIONINA EN CORDEROS, realizada por la alumna: Rosy Gabriela Cruz Monterrosa, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

Consejero

Dr. J. Efrén Ramírez Bribiesca

Asesor

Dra. Elizabeth García García

Asesor

Dra. Alma Revilla Vázquez

Asesor

Dr. Mario A. Cobos Peralta

Montecillo, Texcoco, México, Junio de 2008

FUNCIÓN FISIOLÓGICA DEL SELENIO SUPLEMENTADO CON SELENITO DE SODIO Y SELENOMETIONINA EN CORDEROS

Rosy Gabriela Cruz Monterrosa, M.C.

Colegio de Postgraduados

El Objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del suplemento de selenio (Se) sobre la función digestiva de corderos. Veinte corderos fueron utilizados en este experimento, y todos ellos fueron incluidos en el tratamiento uno: 1) Sin suplemento de Se 0.1 ppmSe, Después de finalizar este, todos los corderos fueron divididos en los siguientes 2 tratamientos T2) Con suplementación de Na_2SO_3 : dieta con 0.3ppmSe y 3) Con suplementación de selenometionina, dieta con 0.3 ppmSe. Antes de iniciar el experimento, los 20 corderos con un peso de 30 kg y una edad de 6 meses fueron canulados en el rumen y duodeno. Los animales fueron mantenidos en jaulas metabólicas; el consume del alimento fue realizado por dos veces al día, ajustando este para que no existieran rechazos. Los tratamientos fueron distribuidos en 3 grupos con una adaptación de 10 días y 5 días de muestreo por periodo, las comparaciones entre los promedios fue realizado con la prueba de diferencia mínima significativa. Las muestras de líquido ruminal fueron usadas para determinar el pH, Se en bacteria, población de bacterias y protozoarios, concentración de AGV y concentración de Se. Las muestras de líquido duodenal y fecal fueron usadas para determinar la digestibilidad pre-gástrica, post-gástrica y total, con la inclusión de 0.4% de óxido crómico como marcador de la digesta. Los resultados de las pruebas demostraron el efecto de Se de la dieta sobre la tasa de pasaje en el intestino delgado. El suplemento de Se en la dieta con selenito de sodio y selenometionina mejoró la tasa de pasaje del selenio al intestino delgado. La eficiencia microbiana ruminal (g NM/kg MO verdadera fermentada) tendió a incrementar con la suplementación de Se. No hubo diferencias en la solubilidad de Se, proporción molar de acético,

propionico y butírico. La concentración de bacterias en el líquido ruminal incrementó con ambas fuentes de suplementos de Se. En conclusión, no hubo diferencias en la absorción y digestibilidad con selenito de sodio o selenometionina incluida en la dieta de corderos.

PHYSIOLOGICAL FUNCTION OF SELENIUM SUPPLEMENTED WITH SODIUM SELENITE AND SELENOMETIONIN IN LAMBS

Rosy Gabriela Cruz Monterrosa, M.C.

Colegio de Postgraduados

The objective of this work was to evaluate the effect of selenium (Se) supplement on the digestive function of lambs. Twenty lambs were used in this experiment and all they were included in treatment one: 1) Without supplement of Se :0.1 ppmSe, After finished this one, all lambs were divided in following 2 treatments: T2) With supplementation of Na₂SO₃: diet with 0.3ppm and 3) With supplementation of selenometionin, diet with 0.3 ppm. Before to beginning this experiment, twenty lambs with to weight of 30 kg and an age of 6 months were cannulated in rumen and duodenum. The animals were housed in metabolic cages; the consumption of the food was carried out twice a day, adjusting it so that there were not rejections. The treatments were distributed in 3 groups with an adaptation of 10 days and 5 days of sampling per period; the comparisons among the averages of the effects

were carried out with SMD. The samples of the ruminal liquid were used to determine the pH, Se bacteria, bacteria and protozoa population, the concentration of VFA and the concentration of Se. The samplings of duodenal and fecal liquid were used to determine the digestibility pre-gastric, post-gastric and total, with the inclusion of 0.4 % chromic oxide as a digesta marker. The results of the tests showed Se effect of the diet on the passage rate in the small intestine. The Se supplement in the diet with sodium selenite and selenometionin improved the passage of Se to the small intestine. The efficiency microbial ruminal (g NM/kg MO truly fermented) tend to increase with the supplementation of Se. There were not differences on the solubility of the Se, proportion molar of acetic, propionic and butyric acid. Bacteria concentration in ruminal fluid increased with both sources of Se supplement. In conclusion, there were not differences in absorption and digestibility with sodium selenite or selenometionin including in the diet of lambs.

INDICE

Resumen.....	iii
INDICE DE CUADROS.....	X
INDICE DE FIGURAS.....	XI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Historia y características químicas del selenio.....	3
2.2. Funciones fisiológicas y metabólicas del selenio.....	4
2.3. Sitios de absorción digestiva del selenio.....	11
2.4. Factores que limitan la absorción del selenio.....	12
2.5. Requerimientos de selenio.....	13
2.6. Suplementos de selenio.....	14
3. JUSTIFICACIÓN.....	15
4. OBJETIVO.....	16
5. HIPÓTESIS.....	16
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	17
6.1. Lugar de estudio.....	17
6.2. Animales.....	17
6.3 Consumo de alimento.....	18

6.4 Distribución de los tratamientos.....	19
6.5 Colección de muestras.....	21
6.5.1 Contenido duodenal y fecal.....	21
6.5.2 Líquido ruminal.....	22
6.5.3 Sangre.....	22
6.5.4 Tejidos.....	23
6.6 Conteo de bacterias y protozoarios.....	23
6.6.1 Protozoarios ruminales.....	24
6.6.2 Bacterias ruminales.....	24
6.7 pH ruminal.....	25
6.8 Concentración de ácidos grasos volátiles (AGV).....	26
6.9 Determinación de cromo.....	26
6.10 Determinación de purinas.....	27
6.11 Obtención de la masa bacteriana.....	28
6.12 Determinación de selenio.....	29
6.13 Cálculos	31
6.14 Análisis estadístico.....	31
7. RESULTADOS Y DISCUSION.....	33
7.1. Digestibilidad y absorción de materia orgánica y selenio.....	33
7.2. Microorganismos, ácidos grasos volátiles y selenio en rumen.....	37

8. CONCLUSIONES	43
9. LITERATURA CITADA	44

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Selenoproteínas en mamíferos.....	9
Cuadro 2. Composición de dieta basal ofrecidas a corderos.	19
Cuadro 3. Cantidad de reactivo para las diferentes tipos de muestras.....	30
Cuadro 4. Consumo de nutrientes en corderos antes y después de suplementar dos fuentes de selenio.....	33
Cuadro 5. Flujo de nutrientes hacia el duodeno de corderos antes y después suplementar dos fuentes de selenio.....	34
Cuadro 6 Digestión o absorción de nutrientes antes y después de suplementar dos fuentes de selenio.....	35
Cuadro 7. Digestión postruminal de nutrientes antes y después de suplementar dos fuentes de selenio.....	35
Cuadro 8. Digestión total de nutrientes antes y después de suplementar dos fuentes de selenio.	37
Cuadro 9. Concentraciones de microorganismos, selenio y producción de ácidos grasos volátiles, CO ₂ y metano en rumen antes y después de suplementar dos fuentes de selenio.....	38
Cuadro 10. Concentraciones de selenio (ppm) en sangre de corderos antes y después de suplementar dos fuentes de selenio.....	41
Cuadro 11. Concentraciones de selenio (ppm) en tejidos de corderos después de suplementar dos fuentes de selenio.....	42

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reacciones fisiológicas asociadas a la producción de radicales libres.....	6
Figura 2 Rutas metabólicas del selenio.....	10
Figura 3 Forma de conteo de bacterias ruminales.....	25

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años el interés por el estudio de los microelementos y en particular por el selenio (Se) ha ido en aumento, debido a su gran importancia en la nutrición animal. En la producción ovina la deficiencia de este mineral causa problemas graves especialmente en el desarrollo de los corderos y en la etapa de gestación de las ovejas (Abd El Ghany-hefnawy *et al.*, 2007). Entre las formas mediante las cuales se puede suplementar selenio para corregir la deficiencia son a través de sales minerales en el alimento, aplicación de inyecciones subcutáneas, dosificación oral de selenio sódico y aplicación de bolos o comprimidos ruminales. Estas prácticas suplementarias se realizan principalmente desde el altiplano del país hasta la península de Yucatán, por ser regiones con mayor incidencia en la deficiencia de selenio. La deficiencia de selenio es causa común de distrofia muscular en pequeños rumiantes (Ramírez *et al.*, 2001), pérdida de la actividad de la selenoproteína glutatión peroxidasa (Yeh *et al.*, 1997) y supresión de la inmunidad (Beckett and Arthur, 2004)

La fuente de Se comúnmente usada en la alimentación de rumiantes es el selenito sódico (Na_2SeO_3), pero su uso está limitado por el riesgo de toxicidad durante su manipulación. Otras fuentes de Se son las de tipo orgánico (metionato de Se y levaduras enriquecidas con Se) (Flores *et al.*, 2007). El Se es uno de los minerales más tóxicos para todos los animales, tiene un rango de tolerancia muy reducido entre su requerimiento y toxicidad. Generalmente en la dieta el requerimiento mínimo y nivel máximo tolerable fluctúa entre 0.05 y 5 ppm (NRC, 2007). Por tal motivo es importante contar con suplementos de selenio que proporcionen un alto grado de seguridad, proporcionando dosis adecuadas de Se, evitando su deficiencia, pero sin descuidar el riesgo de generar toxicidad. Las formas de selenio que se utilizan para suplementar son:

Se orgánico, que predominantemente se encuentra en forma de selenometionina en los alimentos, mientras que, y el selenito de sodio (forma inorgánica) más usada como suplemento; sin embargo, como no se encuentra

naturalmente, se cree que es menos disponible y efectivo en los procesos de absorción (Surai, 2002). Aunque otras investigaciones han demostrado una alta disponibilidad y absorción a nivel del tracto digestivo del selenito de sodio en corderos (Cruz, 2005). Por tales razones esta investigación pretende comparar la forma orgánica e inorgánica de suplementos de selenio en los procesos de digestibilidad, absorción y concentraciones en tejidos.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Historia y características químicas del selenio

El Se fue descubierto como elemento químico a principios del siglo XIX por Jöns Jacob Berzelius (NRC, 1983), éste investigador identificó al Se durante la oxidación del dióxido de azufre en la producción de ácido sulfúrico y nombró al selenio como Selene, que quiere decir “diosa griega de la luna”. El Se es un componente esencial en el organismo y cumple diversas funciones, pero antes de 1957 solo se conocía por sus propiedades tóxicas. Varios autores lo identificaron como el responsable de intoxicaciones agudas o crónicas mortales para los animales que pastaban en zonas con concentraciones particularmente elevadas de selenio en los forrajes. El interés de la esencialidad del selenio comenzó con Schwarz y Foltz (1958) quienes divulgaron que el selenio es el ingrediente activo en “el factor 3”, el cual asociado a la vitamina E y a los aminoácidos azufrados, era capaz de prevenir la degeneración necrótica del hígado de rata y cerdo. Posteriormente se determinó que previene la enfermedad del músculo blanco en terneros y corderos. En 1974, se aprobó en EUA la suplementación de selenio en dietas a 0.1 ppm en cerdo y pollos en crecimiento. En el mismo año se aprobó la suplementación en dietas para pavo en 0.2 ppm (FDA, 1974). Posteriormente en 1987 se aprobó la suplementación de selenio en dietas en pollos, pavos, patos, cerdo, oveja y bovinos a una concentración de 0.3 ppm (FDA 1987).

En 1973 Rotruck en la Universidad de Wisconsin en Tübingen demuestran la presencia de selenio en el centro activo de la enzima glutatión peroxidasa de los mamíferos, esta enzima participa en el metabolismo del peróxido de hidrógeno y de peróxidos lipídicos. El papel bioquímico esencial del selenio se debe a que forma parte de la enzima glutatión- peroxidasa (Mahan, Cline, and Richert. 1999). Parece que el metabolismo específico del Se se centra alrededor de su incorporación como selenocisteína en selenoproteína (Burk, 1991)

El selenio tiene el número atómico 34 y un peso molecular de 78.96. Está localizado en el grupo del oxígeno en la tabla periódica de los elementos, entre el azufre (no metal) y el telurio (metal). Se clasifica en el grupo VIA de la tabla periódica de los elementos. Tiene tanto propiedades metálicas como no metálicas y es considerado un metaloide. Se localiza entre los metales telurio y polonio y entre los no metales oxígeno y azufre por grupo y entre los no metales arsénico y bromo por periodo. Puede existir en los estados de oxidación 2^- , 0 , 4^+ y 6^+ . La concentración y asociación del Se en un ambiente determinado depende del pH y el potencial de oxido-reducción, la solubilidad de sus sales, interacciones biológicas y reacciones cinéticas (Shamberguer, 1981).

Se han identificado seis isótopos estables de selenio presentes en la naturaleza y al menos pueden ser producidos siete isótopos inestables. Los isótopos ^{75}Se , ^{77m}Se y ^{81}Se pueden ser utilizados para cuantificar selenio (NRC, 1983). Según Shamberguer (1981), el selenio puede existir como selenuros (Se^{2-}), selenio elemental (Se^0), selenito (SeO_3^{2-}) y selenato (SeO_4^{2-}). Cada estado de oxidación muestra un comportamiento químico diferente. Los selenuros y el selenio elemental se presentan en ambientes ácidos, reductores y ricos orgánicamente. Los selenuros metálicos y el selenio elemental son insolubles y por lo tanto no son biológicamente disponibles. Para las condiciones redox y de pH de la mayoría de los suelos y ambientes acuáticos, los selenitos y selenatos deben ser las formas dominantes de selenio. El selenato es biológicamente disponible debido a la solubilidad de sus sales y su pobre adsorción por partículas.

2.2 Funciones fisiológicas y metabólicas del selenio

El selenio se encuentra en aminoácidos azufrados; en la porción hemo del citocromo C y en algunos ácidos aminocil nucleicos (t=RNA) los que parecen participar en procesos oxidativos (O'Dea y Agar, 1990). La glutatión peroxidasa que se localiza en los eritrocitos es dependiente de selenio e interviene en

reacciones celulares de oxidación y reducción, catalizando reacciones que ayudan a destruir el peróxido de hidrogeno e hidroperóxidos de ácidos grasos, resultantes del metabolismo de ácidos grasos polinsaturados (Miyazaqui, 1991). Hasta hoy en día se han clasificado por lo menos 17 selenoproteínas; entre estas a la glutatión peroxidasa (GSH-Px). Estudios posteriores realizados por Sunde y Hoekstra han demostrado que la estructura de la enzima celular está conformada por cuatro subunidades de 22,000 daltons cada una, donde cada subunidad contiene un residuo de selenio (Se) en forma de selenocisteína (Burk y Hill, 1993). La glutatión peroxidasa clásica o celular (c GSH-Px) fue la primera en ser descubierta, esta es la enzima que de manera general se refieren la mayor parte de las publicaciones, está prácticamente en todas las células, puede reducir el peróxido de hidrógeno e hidroperóxidos orgánicos libres y convertirlos en agua y alcoholes. La glutatión peroxidasa extracelular o plasmática (e GSH-Px) es una glicoproteína purificada, caracterizada a partir de plasma humano que se sintetiza en las células tubulares proximales del riñón. La glutatión peroxidasa gastrointestinal (GI GSH-Px) representa la principal peroxidasa dependiente de glutatión en el tracto gastrointestinal, es importante en la reducción de hidroperóxidos de colesterol y en la protección contra la toxicidad por ingestión de hidroperóxidos lipídicos. La glutatión peroxidasa fosfolípido-hidroperoxidasa (pH GSH-Px), funciona en remoción de fosfolípidos hidroperóxidos y se localiza en testículos y epitelio renal, es la única isoforma cuya estructura es monomérica; es decir, contiene un solo residuo de selenocisteína (Himeno Imura, 2000).

Los peróxidos se reducen por la reacción catalítica de la Gsh-Px, pero si estos se encuentran en concentraciones elevadas en la célula, oxidan a las proteínas y los lípidos alterando la función de estas moléculas (Wilson, 1981). La Gsh-Px dependiente de selenio así como la superoxidismutasa (SOD), la catalasa, el ascorbato, Vit E, beta caroteno y otros compuestos son importantes para la protección celular contra la oxidación (Jacques *et al.*, 1988). La superóxido dismutasa representa la primera línea de defensa, cataliza la reacción de destrucción de los radicales superóxido mediante su transformación en peróxido

de hidrógeno, que a su vez, puede ser destruido por las actividades de la catalasa o de la glutatión peroxidasa (Figura 1, Miller 1974). Mientras que la Gsh-Px reduce los peróxidos, la vitamina E reacciona directamente con radicales libres superóxido (O_2^-), peroxi (ROO'), oxígeno individual e hidroxilo (OH'), resultando el antioxidante liposoluble principal para la protección de las membranas celulares contra la miopatía asociada con dietas ricas en ácidos grasos polinsaturados (NRC, 1983).

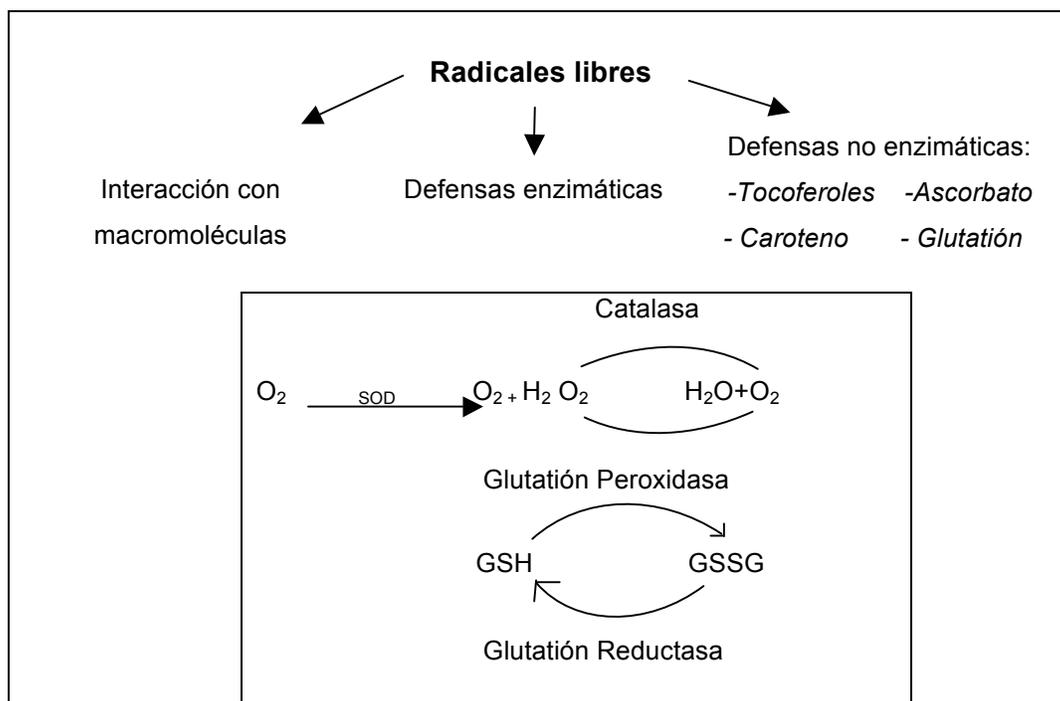


Figura 1. Reacciones fisiológicas asociadas a la producción de radicales libres

La destrucción produce en músculo zonas de necrosis celular y coagulación tisular con degeneración de tejido (distrofia muscular). El mecanismo de este proceso involucra la acción de AGPi, Se. y vitamina. E, y de lípidos como: Linolenico, linoléico y araquidónico. En el proceso intervienen otros químicos desencadenantes como el oxígeno, peróxidos de hidrógeno, superóxidos y radicales hidroxilo, que por si solos pueden iniciar el daño celular en lípidos y

proteínas con pérdida de funciones y baja actividad catalítica. Los efectos pueden ser graves y solos pueden causar la aparición de signos clínicos (Jackson, 1987).

La glutatión peroxidasa es usada como una alternativa para estimar la concentración de selenio en los tejidos. Esto se justifica debido a que esta enzima contiene selenio y su actividad esta altamente correlacionada con la concentración de selenio en sangre. (Miller, 1974). Una baja actividad enzimática de GSH-Px (0.15 ug/ml.) es signo de deficiencia y daño muscular; con incremento de la actividad de creatin fosfoquinasa (CPK) que resulta detectable en orina y suero. El valor normal de CPK en terneros es 200-300 mg/día en suero, pero en la distrofia muscular nutricional se eleva hasta 1.3 gr. /día. En el plasma una concentración de 2.5 millones de UI/l. Indica presencia de daño muscular.

Los mismos cuestionamientos se hacen para glutatión peroxidasa, en algunas situaciones es inadecuada su medición, si la suplementación se realiza, existe una importante pérdida en la respuesta de la enzima para cambiar el estatus de selenio. Los eritrocitos no pueden sintetizar proteína por lo tanto la glutatión peroxidasa varía de acuerdo a la cantidad de selenio disponible en la eritropoyesis (Stowe y Herdt, 1992).

La sobrevivencia de los eritrocitos en la sangre es de 135 y 152 días en bovinos, por tanto, el cambio en el estatus de selenio en el animal no puede ser inmediatamente reflejado en la concentración glutatión peroxidasa del eritrocito. En los animales con deficiencia de selenio el incremento de la glutatión peroxidasa ocurre de 4 a 6 meses después de la dosificación. Por otro lado, si el animal se suplementa con fuentes de selenio orgánico (como selenometionina), el cual no es específicamente incorporado en la glutatión peroxidasa el estatus funcional de esta enzima no se refleja en el animal (Gerloff, 1992). Un problema extra es que el análisis de glutatión peroxidasa es altamente variable de laboratorio a laboratorio y que se deteriora fácilmente durante el transporte de las muestras, lo que dificulta la estandarización y comparación de resultados (Stowe y Herdt, 1992).

La relación creatina-creatinina en cordero normalmente es menor de 0.7, pero en la distrofia muscular nutricional (DMN) sube de 1 a 5 (Ullrey, 1992). Sin embargo, la determinación del complejo enzimático citado, cada vez es más limitado. En el caso de la creatina fosfoquinasa su incremento no necesariamente se da por la etiología de DMN, y el sólo hecho de administrar selenio por vía intramuscular determina incremento de esta enzima, sí es que se causa lesión y necrosis del tejido muscular, después de la inyección (Miller, 1974).

El selenio orgánico como el inorgánico puede ser incorporado en el organismo formando parte de selenoproteínas. En 1990 Sunde clasificó a cuatro tipos de selenoproteínas: Proteínas específicas de selenio que incluyen a las enzimas glutatión peroxidasa, tioxin reductasa y hediondasas y estas incluyen el grupo mas importante de selenoproteínas (Draft Toxicological Profile for Selenium,2001), el segundo tipo es proteínas que incorporan selenocisteína en codones de cisteína, el tercer tipo es proteínas que incorporan selenometionina en lugar de metionina, y por ultimo las proteínas que se ligan inespecíficamente a selenuro (Sunde 1990).

Actualmente se han clasificado 17 selenoproteínas; entre éstas las conocidas como glutatión peroxidasa (GSHPx) (Cuadro 1). La primer glutatión peroxidasa, se le conoce actualmente como glutatión peroxidasa clásica o celular (cGSHPx). Otras enzimas genéricas identificadas son la glutatión peroxidasa extracelular o plasmática (eGSHPx), la glutatión peroxidasa gastrointestinal (GPX-GI), y la glutatión peroxidasa fosfolípido-hidroperoxidasa (PHGPx) (Dietrich y Kyriakopoulos, 2001).

Las enzimas GSHPx intervienen en los mecanismos antioxidantes del organismo, su función esencial es reducir la cantidad peróxidos intra y extracelular (Allen *et al*, 1975). La glutatión peroxidasa extracelular se localiza en plasma, y protege a los eritrocitos de los peróxidos que dañan sus membranas. Estas enzimas requieren de selenio para su función. En el caso de porcinos, la actividad

enzimática más alta se observa en tejido hepático; mientras que en rumiantes, la mayor actividad se observa en tejido renal (Dietrich y Kyriakopoulos, 2001).

Cuadro 1. Selenoproteínas en mamíferos (Himeno e Imura, 2000)

<i>Selenoproteínas</i>	<i>Funciones</i>	<i>Localización</i>
Glutación peroxidasa		
Glutación peroxidasa celular (cCPx o GPX1)	Remoción de hidroperóxidos	Ubicuita
Glutación peroxidasa gastrointestinal (GPx-GI o GPX2)	Remoción de hidroperóxidos	Gastrointestinal
Glutación peroxidasa extracelular (eGSHPx o GPX3)	Remoción de hidroperóxidos	Plasma
Glutación peroxidasa fosfolípido hidroperoxidasa (PHGPx o GPX4)	Remoción de fosfolípido hidroperóxidos	Ubicuita, testículos
5' Triyodotironina deionidasa (5'-DI)		
Tipo 1 5'-DI	Conversión de T4 a T3, T4 a rT3	Glándula tiroides, hígado riñón
Tipo 2 5'-DI	Conversión de T4 a T3	Glándula pituitaria, SNC, tejido adiposo café
Tipo 3 5'-DI	Conversión de T4 a rT3	Placenta
Tioredoxin reductasa (TrxR)		
TRxR1	Reducción de tioredoxin	Ubicuita (citosol)
TRxR2	Reducción de tioredoxin	Ubicuita
TRxR3	?	Testículos
Selenoproteína P	Antioxidante? Acarreadora de Se ?	Plasma
Selenoproteína W	?	Ubicuita, músculo
Selenofosfato sintetasa 2 (SPS2)	Síntesis de selenofosfato ?	Ubicuita
Selenoproteína 15-kDA	?	Ubicuita
Se1T	?	?
Se1R/SeX	?	?

En el caso de rumiantes, los microorganismos del rumen pueden convertir el selenio inorgánico a formas orgánicas o viceversa. La síntesis de formas orgánicas pueden ser a través de la incorporación de selenio a aminoácidos formando selenoaminoácidos de selenocisteína y selenometionina. Principalmente, el selenio se incorpora a aminoácidos y forma selenometionina, secundariamente esta selenometionina puede ser transformada a selenocisteína mediante transulfuración. La selenocisteína puede incorporarse a proteínas de selenocisteína, o también puede ser llevada a selenuro con la participación de la enzima selenocisteína β -liasa. Las formas inorgánicas pueden ser como selenuros o selenatos insolubles, estas formas resultan no biodisponibles al animal (Figura 2).

En los tejidos de los animales aún se carece de información sobre la conversión de formas inorgánicas a orgánicas y viceversa. Cuando se trata de la incorporación de selenato este se reduce a selenito, y a su vez a selenuro vía glutatión o vía serina. El selenuro resulta el eje de partición en el metabolismo de Se y da origen a cuatro grupos de selenoproteínas (Sunde, 1990):

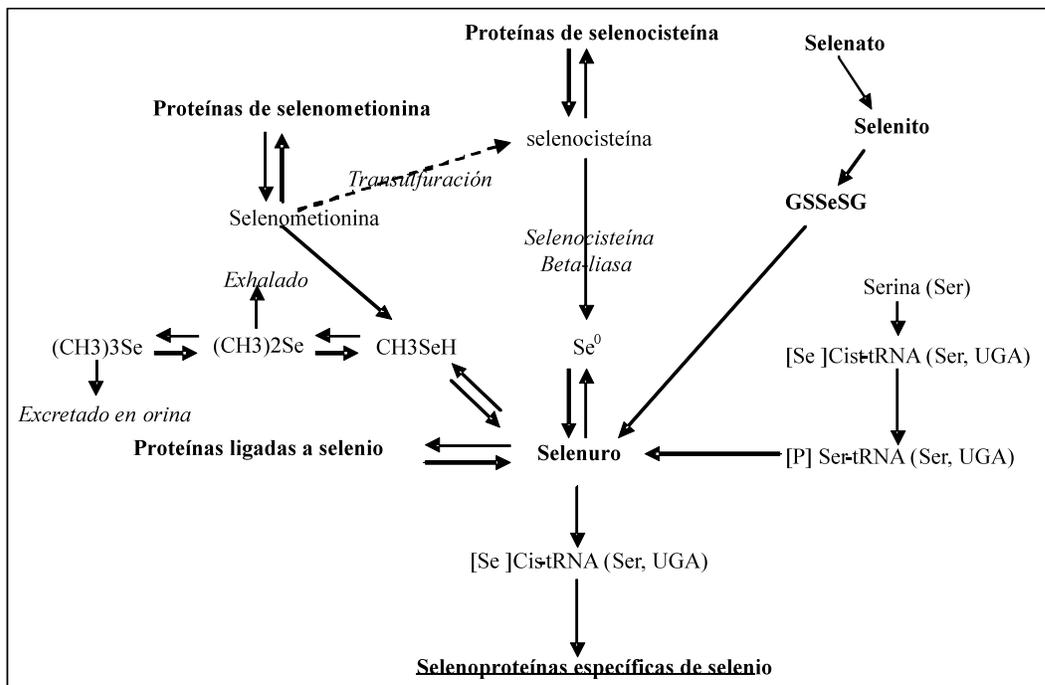


Fig. 2 Rutas metabólicas del selenio. Adaptado de Sunde (1990).

La excreción de selenio ocurre vía urinaria, heces y aire expirado. El selenio en orina es excretado como trimetilselenuro ((CH₃)₃Se). El selenio excretado en heces es aquel que no se absorbió y se encuentra en forma insoluble. Una pequeña parte de éste es endógeno y proviene de la secreción de bilis, páncreas e intestino (NRC, 1983). En el caso de humanos el sudor resulta una fuente mínima de eliminación de selenio (Dietrich y Kyriakopoulos, 2001).

2.3 Sitios de absorción digestiva del selenio

La absorción del selenio se realiza con mayor eficiencia en el duodeno y posteriormente en yeyuno e íleon (Ellison 1992). La administración de selenio por vía oral como selenito, en no rumiantes se absorben niveles de 77 al 85%, mientras que en rumiantes del 29 al 35% (Langlands, 1991a). Esta variación de absorción se debe al metabolismo del elemento por los microorganismos del rumen que convierten una porción del selenio en formas insolubles y otra la incorporan a sus proteínas, a través de la conversión de formas insolubles como son el selenio elemental y selénidos en la formación de selenoaminoácidos (Hansard, 1983). Esta actividad microbiana es favorable con dietas altas en carbohidratos y están involucradas algunas bacterias y protozoarios ruminales. (NRC, 1983). Si se les administra por vía intrarruminal selenito ó selenometionina a ovinos selenodeficientes, este último compuesto se absorbe de 12-13% más que el selenito (McMurray, 1989). Las ventajas de las sales minerales son su bajo costo y fácil administración en el alimento, sin embargo su inestabilidad para mantener el estatus del elemento en el animal (debido a su compleja absorción) es mayor en comparación con la vía parenteral y se corren importantes riesgos de rechazo en el consumo de los animales y por defectos en la homogenización de las mezclas en la dieta (Tasker, 1992).

2.4 Factores que limitan la absorción del selenio

Trabajos realizados en rumiantes, cerdos y humanos (Draft Toxicological Profile for Selenium, 2001) indican que el selenio orgánico en forma de selenometionina se absorbe de manera más eficiente que el selenito de sodio, a nivel de intestino delgado. La selenometionina se absorbe en contra de un gradiente de concentración, siendo diferente para selenitos y selenocisteína. Sin embargo las formas orgánicas independientemente de su diferencia de absorción, tienen con mayor rapidez y mejor tasas de absorción que las formas de selenio inorgánico (Dietrich y Kyriakopoulos, 2001).

La absorción de selenio en rumiantes es significativamente menor que en el caso de no rumiantes; los reportes señalan menos de la mitad de capacidad de retención de selenio suministrado por vía oral (NRC, 1983). Los microorganismos ruminales son los probables responsables de la baja absorción de selenio; estos tienen la capacidad de reducir el selenio de la dieta a formas insolubles y no biodisponibles, en consecuencia el mineral es altamente eliminado por heces. Sin embargo, los microorganismos ruminales también tienen la capacidad de incorporar selenio a las proteínas bacterianas, aumentando así su biodisponibilidad. Los procesos antes mencionados no están claramente explicados, pero se menciona que se puede aumentar o disminuir la biodisponibilidad de selenio en rumiantes, modificando el porcentaje de proteína y carbohidratos en la dieta (NRC, 1980).

Otros factores que modifican la disponibilidad de selenio es la propia interacción con otros minerales. El arsénico, azufre y cobre en concentraciones altas en dietas, disminuye la tasa de absorción y retención del selenio en el organismo. El cobre, además, a una concentración alta en la dieta, aumenta la retención hepática de selenio. De igual manera debe ser considerada las necesidades de yodo y selenio para un buen funcionamiento de la glándula tiroides. La demanda de uno u otro de estos dos microminerales pueden afectar al

otro, dependiendo de la actividad de dionidasas y glutatión peroxidadas (Lee *et al*, 2002).

2.5 Requerimientos de selenio

Los lactantes que sufren la enfermedad de músculo blanco, presentan niveles de selenio menores de 0.05 ppm en sangre, suero sanguíneo y músculo y menores de 0.1 ppm en hígado (base seca) (Shamberger, 1981). Las concentraciones de selenio en suero y plasma resultan adecuadas para reflejar los niveles de suplementación inmediata, mientras que la concentración en la sangre es más adecuada para representar su cantidad a largo plazo (Gerloff, 1992). El selenio incrementa en la sangre más lentamente con la suplementación y declina de igual manera sin suplemento (Gerloff, 1992). Otras investigaciones sugieren que las concentraciones de selenio en suero e hígado son las idóneas para la medición del estatus del mineral (Miller, 1974). En el caso de biopsias y necropsias se ha determinado que la mayor concentración del mineral se encuentra en músculo esquelético y posteriormente en hígado y riñón (Stowe y Herdt, 1992).

Ullrey *et al.* (1977), indicó que 0.1 ppm de selenio (como selenito de sodio) pueden ser adicionadas a dietas para ovinos y bovinos productores de carne sin un incremento marcado en las concentraciones de selenio. Siempre y cuando la dieta basal contenga niveles bajos de este elemento. La recomendación de la NRC (1985) sugiere la misma cantidad de 0.1 ppm en la ración. Sin embargo en otras investigaciones se ha observado que el selenio y vitamina E, en concentraciones mayores, pueden desencadenar un efecto sinérgico en la respuesta inmune, prevención y resistencia a enfermedades (Blodget *et al.*, 1986). La distribución del micro elemento en los ovinos se encuentran en los riñones (6.5%), hígado (4.4%), páncreas (0.46%), bazo (0.48%), tracto digestivo (10.08%), pulmón (2.63%), músculo cardíaco (0.99%), músculo esquelético

(33.51%), cerebro (0.46%), sangre (8.57%), hueso (7.3%), piel (7.16%), lana (17.41%) (Grace y Clark, 1991).

2.6 Suplementos de selenio

Las formas primarias inorgánicas de Se son el selenito y el selenato de sodio, estas dos fuentes son utilizadas con frecuencia como suplemento en humanos y animales, pero el selenato y el sulfato pueden entrar en competición para su absorción. La mayor parte de los alimentos contienen la forma orgánica de este mineral, este se une a un aminoácido sustituyendo al azufre por metionina o cisteína formando selenometionina o selenocisteína (Levander, 1983). Una tercera parte de selenio de las plantas esta en diferentes formas de metilato de selenio, incluyendo el Se- metilo selenocisteína (Cai *et al.*, 1995). La biodisponibilidad y toxicidad del Se depende, no sólo, de su concentración total sino también de las formas físico-químicas. Las fuentes de Se son orgánicas e inorgánicas. Las primeras involucran selenito de sodio, Selenato de sodio y Selenato de bario. Las segundas son compuestos como selenometionina y selenocisteína.

3. JUSTIFICACIÓN

Los suplementos de Se administrados directamente por vía oral o adicionados en el alimento pueden ser de forma orgánica e inorgánica. En ambas formas existen diferencias de disponibilidad, por ejemplo, el Se orgánico administrado como selenometionina puede ser mejor absorbido que el Se inorgánico administrado en la forma de selenito de sodio, esta respuesta ha sido confirmada en no rumiantes como cerdos y aves (Langlands, 1991a). Sin embargo, en rumiantes puede ser totalmente diferente, el Se no se absorbe en rumen y abomaso, el principal sitio de absorción es el intestino delgado, y para que pueda darse el proceso debe de estar en formas disponibles. Los microorganismos ruminales tienen la capacidad de convertir el Se a formas insolubles como Se elemental, selenuros, o incorporando el Se en aminoácidos a través de los microorganismos, para formar selenoamino-ácidos como la selenometionina o selenocisteína. Actualmente los laboratorios que comercializan las formas de Se orgánico incluidas en levaduras ofrecen ventajas fisiológicas y productivas con estos productos, pero las tasas de transformación a formas disponibles e indisponibles de las fuentes orgánicas e inorgánicas de Se, una vez que pasan por el rumen son desconocidas. Las razones citadas justifican la importancia de evaluar a la selenometionina y al selenito de sodio en la respuesta fisiológica y digestiva de corderos.

4. OBJETIVO

4.1 Objetivo general

Evaluar las características de digestión, absorción, flujo del Se en el tubo gastrointestinal y concentración del microelemento en tejidos de corderos suplementados con selenometionina o/y selenito de sodio administrados por vía oral.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar la digestibilidad y absorción del Se en el tubo gastrointestinal de corderos suplementos de Na_2SeO_3 y selenometionina.
- Evaluar la concentración de selenio, pH, masa bacteriana y número de protozoarios en líquido ruminal de corderos después de la administración continua de ambas fuentes de selenio.
- Evaluar concentraciones de selenio en tejido muscular, hígado ,riñón , corazón

5. HIPÓTESIS

El suplemento de selenito de sodio y selenometionina en corderos no presenta diferencias de absorción, ambas fuentes se acumulan similarmente en los tejidos y pueden utilizarse para cubrir los requerimientos de selenio

VI.- MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Lugar del estudio

La prueba de digestibilidad se realizó en la Granja Experimental del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, ubicada en el Km. 36.5 de la carretera México-Texcoco, Estado de México. Actualmente se cuentan con las jaulas metabólicas disponibles para los animales.

La fase de sacrificio de los animales se realizó en el rastro de San Martín Texmelucan, Puebla. Para lo cual contaban con las instalaciones adecuadas para el sacrificio de los ovinos del experimento.

La fase de laboratorio se realizó en la sección de Química Analítica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán en la Universidad Nacional Autónoma de México, Estado de México, y en los Laboratorios de Nutrición Animal y Microbiología Ganadería del Instituto de Recursos Genéticos y Productividad del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

6.2 Animales

Veinte corderos cruzados de raza Pelibuey x Katadin x Dorper de 6 meses de edad se seleccionaron en tamaño y peso homogéneo, con buen estado físico. Los animales se desparasitaron con ivermectina (Ivomec® 0.02 mL/KgPV vía subcutánea) y closantel (Closantil® al 15%, 10mg/kgPV, vía oral). Se les aplicó bacterina para prevenir la enterotoxemia (Ultrabac 7®, dosis única de 2.5 mL), y se adaptaron dentro de las jaulas metabólicas para facilitar el manejo y la toma de muestras. Las cánulas de rumen y duodeno se fabricaron con tubos de tygon-R3603® de 2 y 3 cm de diámetro. Las cirugías se realizaron con un protocolo de manejo adecuado en los animales facilitando el bienestar y menor estrés posible con un tiempo de recuperación de 15 días para dar inicio a la fase experimental.

Una semana antes del experimento los veinte corderos se pesaron y se obtuvo el promedio de los pesos, agrupando ambos grupos con pesos similares.

6.3 Consumo de alimento

La adaptación del consumo de alimento de los corderos a su llegada a la granja experimental fue de heno de avena y agua potable fresca y limpia proporcionada a libre acceso, así se continuó durante la etapa de la realización de las cirugías para la fistulación de los animales, posteriormente se les fue graduando el consumo de grano (maíz quebrado) combinado con heno de paja y sales minerales, con la finalidad de evitar problemas metabólicos y urolitiasis.

Antes del experimento se calculó el consumo del alimento en materia seca con base al 3.26 % del peso vivo. La dieta se realizó con un programa de formulación en hoja Excel, quedando balanceada con los ingredientes reportados en el Cuadro 2. El alimento se les suministró a los animales dos veces al día (7 a.m. y 19 pm.), 383 gMS por comida, considerando que no hubo rechazos, esta dieta fue para la fase control y para la fase de la administración de las dos fuentes de selenio.

La dosis de óxido de cromo se calculó al 0.4 % como marcador no digestible, específicamente el consumo de este fue de 3g/día/animal, la dosis se dividió en 2 partes y se suministró en cada comida, inmediatamente al dar el alimento. El cálculo de materia seca de la dieta suministrada a los animales durante el experimento se realizó en cada periodo experimental, obteniendo varias submuestras y preparando un compuesto del alimento.

Cuadro 2. Composición de dieta basal ofrecidas a corderos

Ingredientes	% de la dieta en base MS
Maíz quebrado	35
Heno de avena	27
Pasta de Soya	15
Salvado	12.5
Urea	1
Sales minerales sin selenio	2
Melaza	5
Aceite vegetal	2.5

Composición de nutrientes, base materia seca	
EN _m , Mcal/kg	1.73
EN _g , Mcal/kg	1.15
Proteína, %	18.1
Calcio, %	0.70
Fósforo, %	0.34
Selenio, ppm	0.1

6.4 Distribución de los tratamientos

En el experimento se evaluaron dos fuentes de selenio: la forma orgánica (Seleno - L - Metionina, Sigma® referencia S3132, fórmula: C₅H₁₁N₀₂Se) y la forma inorgánica (Selenito de sodio, fórmula molecular Na₂SeO₃, con un contenido de 45% Se). La fase experimental se dividió en 2 etapas, organizando los veinte corderos en una etapa de testigo y la segunda en etapa de administración del microelemento.

En la primera etapa los veinte corderos consumieron la dieta basal y esta se suministró como ya se mencionó. Fueron 10 días de adaptación y 5 días de muestreo. En la segunda etapa los 20 animales se dividieron en dos grupos de corderos cada uno de 10 respectivamente, el primero fue el tratamiento 1(T1) que corresponde: dieta basal + selenito de sodio y el segundo fue el tratamiento 2 (T2): dieta basal +selenometionina. La etapa fue 15 días de administración de los tratamientos para cada grupo asignado y en los últimos 5 días se realizaron los muestreos correspondientes. La aplicación de las fuentes de selenio se realizaron por la vía intrarruminal suministrando los microelementos diluidos con una válvula conectada a cada cánula.

La elaboración de las soluciones se realizaron un día antes de empezar la etapa del experimento: se prepararon 280 ml de agua destilada + 0.0616 g de selenito de sodio, esto para el T1, sucesivo a esto se prepararon 280 ml de agua destilada + 28 µg de selenometionina y esto corresponde al T2. Al finalizar cada preparación se agitaron cada solución para obtener los tratamientos homogéneos, cada preparado contenía las dosis de administración para un periodo de 7 días, por lo cual este procedimiento se repitió 2 veces para poder concluir la etapa del experimento.

La cantidad de selenio calculada, según lo que recomienda la NRC (2007) a través del análisis factorial fue:

$$\text{Mantenimiento: } 0.00025\text{mg/kg} \times 26\text{kgPV} / 0.60 = 0.0108$$

$$\text{Crecimiento: } 0.50\text{mg/kg} \times .250\text{kgGDP} / 0.60 = \underline{0.208}$$

$$\text{Requerimiento de } 0.219 \text{ mg/kg}$$

Las fuentes de selenio utilizadas fueron Selenito de sodio al 45% y selenometionina. Para el selenito de sodio se pesó 0.0616 g disuelto 280 mL de agua deionizada

La administración de ambas fuentes se diluyeron en agua deionizada a una concentración de 0.1 mgSe/mL. La dosis administrada fue de 0.4 mg/día/animal, dividida en 2mL en cada comida. Correspondiendo las dosis señaladas a una concentración total de 0.52ppm, considerado con el consumo diario de materia seca de 766 g. La dieta basal contenía 0.12ppmSe y con la administración de selenio orgánico e inorgánico se proporcionó 0.64ppmSe en los 2 tratamientos suplementados.

6.5 Colección de muestras

6.5.1 Contenido duodenal y fecal

La recolección de muestra fecal y duodenal fue con un ciclo de recolección de 1.5 horas postprandial durante 5 días de muestreo. Las horas quedan distribuidas de la siguiente manera día 1: 6:45 y 12:35, día 2: 9:05 y 2:55, día 3. 7:55 y 1:45, día 4: 11:25 y 5:15, día 5: 10:15 y 4:05.

La toma de muestra de contenido duodenal fue directamente de la cánula de duodeno con la adaptación de bolsas con un tamaño 18 cm de largo x 10 cm de ancho ajustadas con ligas en la cánula del duodeno para obtener el llenado de estas y así tener el volumen requerido durante la fase de investigación, esta recolección de muestra tuvo una duración de 5 a 10 min, posteriormente se depositaba en un recipiente de plástico con capacidad de 1 L y terminado cada muestreo se llevaba a congelación para su conservación hasta su procesamiento. Las muestras de contenido fecal se seleccionaban con el fin de no tomar muestras contaminadas de alimento, polvo, pelo del animal, etc., estas se depositaban en una bolsa y al término de cada muestreo se llevaban a congelar para su conservación y hasta su posterior análisis.

6.5.2 Líquido ruminal

La toma de muestras del líquido ruminal se realizó 2 veces por cada etapa o fase de investigación, el tiempo de recolección fue a las 3 horas postprandial y se realizó en el primero y el último día de cada periodo experimental. El líquido ruminal se extrajo directamente de la cánula ruminal utilizando una bomba de vacío. Durante el muestreo se obtuvieron 100 a 120 ml de líquido ruminal por cada cordero. La muestra se depositó en un vaso de precipitado y se llevó al laboratorio de microbiología, se filtró con una malla de poro aproximado de 0.05 mm y se colocó en otro vaso de precipitado, con la finalidad de obtener muestras adecuadas para conteo de bacterias, protozoarios, pH y ácidos grasos volátiles. El sobrante de líquido ruminal filtrado se conservó en congelación, debidamente identificada y sellada, para su posterior determinación de selenio

6.5.3 Sangre

Durante las dos etapas de la fase experimental se obtuvieron 2 muestreos de sangre por ovino, la mitad de los muestreos sanguíneos fueron en la primera etapa, antes del suplemento de las fuentes de selenio, y los otros 2 muestreos se realizaron en la etapa de la administración del Tratamiento 1 de selenito de sodio y Tratamiento 2 de selenometionina. La muestra inicial se tomó a los 5 días y la muestra final a los 14 días de cada tratamiento. Cada muestra obtenida por animal fue de 5 mL de sangre extraída de la vena yugular por punción, con agujas y tubos Vacutainer con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) para la conservación de la sangre, terminado cada muestreo se llevaron a congelación para su posterior análisis de determinación de selenio

6.5.4 Tejidos

Al término de la administración de los tratamientos, estos fueron retirados al igual que la administración de cromo. La dieta durante este periodo no cambio, esto sirvió para la eliminación de los tratamientos y consto de 8 días de eliminación. Posteriormente se enviaron a rastro los ovinos, estos fueron primero insensibilizados con una pistola de émbolo en la parte frontal de la cabeza, después los animales se colgaron para desangrarlos, posterior a su sacrificio se obtuvieron las muestras de cada tejido (Tejido musculo esquelético, tejido cardiaco, tejido hepático y tejido renal), estos fueron introducidos en bolsas de tamaño de 18 cm de largo x 10 cm de ancho debidamente identificadas, se llevaron a congelación a -20° C para su posterior análisis en la determinación de selenio.

6.6 Conteo de bacterias y protozoarios

Se utilizaron 80 tubos de cultivos debidamente identificados, libres de humedad y esterilizados, para la preparación de la muestra para conteo de bacterias y 80 tubos para el conteo de protozoarios, cada tubo contenía 2.5 ml de liquido ruminal filtrado, correspondiente a cada cordero y su identificación, se le agregó 2.5 mL de formaldehido al 18.5 %.

Los tubos de cultivo con muestra para conteo de bacteria se dejaron a medio ambiente para su análisis de conteo, con la utilización de una cámara Petroff-Hausser y pipetas Pasteur. Los tubos de cultivo con muestra para conteo de protozoarios se dejaron en refrigeración a 4° C para su análisis de conteo mediante la utilización de la cámara de Neubauer y pipeta Pasteur.

6.6.1 Protozoarios ruminales

Extrayendo del tubo de cultivo, muestra de fluido ruminal y formaldehído con una pipeta Pasteur, por capilaridad, se vertió la muestra que tenía la pipeta Pasteur en la cámara de Neubauer, esta llevó antes en la superficie de un cubreobjeto, se colocó la muestra en la parte inferior y superior de la cámara Neubauer, posteriormente la cámara de Neubauer se colocó en la platina del microscopio de contraste (Microscopio Zeiss, Carl Zeiss Serv. Nr.35302), y se observó con el objetivo de 40 x en las dos cámaras. En la cámara superior se observaron los 9 cuadros y se definieron la línea de cada uno de los cuadros a contar, cuidando en no contar ningún protozooario que toque las líneas ya elegidas. Se comenzó el conteo con el cuadro número 1, que se encuentra en el cuadro superior izquierdo, y el conteo se realizó en el lado superior, luego hacia el sur y continuar hacia el norte, posteriormente se continuó con el mismo proceso con la cámara inferior realizando de igual forma los pasos que con la cámara superior. Terminado el conteo se determinó la concentración de protozoarios con esta fórmula:

$$\text{No. de protozoarios ml}^{-1} = x(\text{FD})(1 \times 10^4).$$

6.6.2 Bacterias ruminales

Los tubos que contienen la muestra para conteo de bacterias se agitaron con el vortex y posteriormente se toma una muestra de aproximadamente 100 μL con una micropipeta 10-100 μL y se depositó en la cámara de Petroff Hausser. El conteo se realizó con la explicación de la Figura 3:

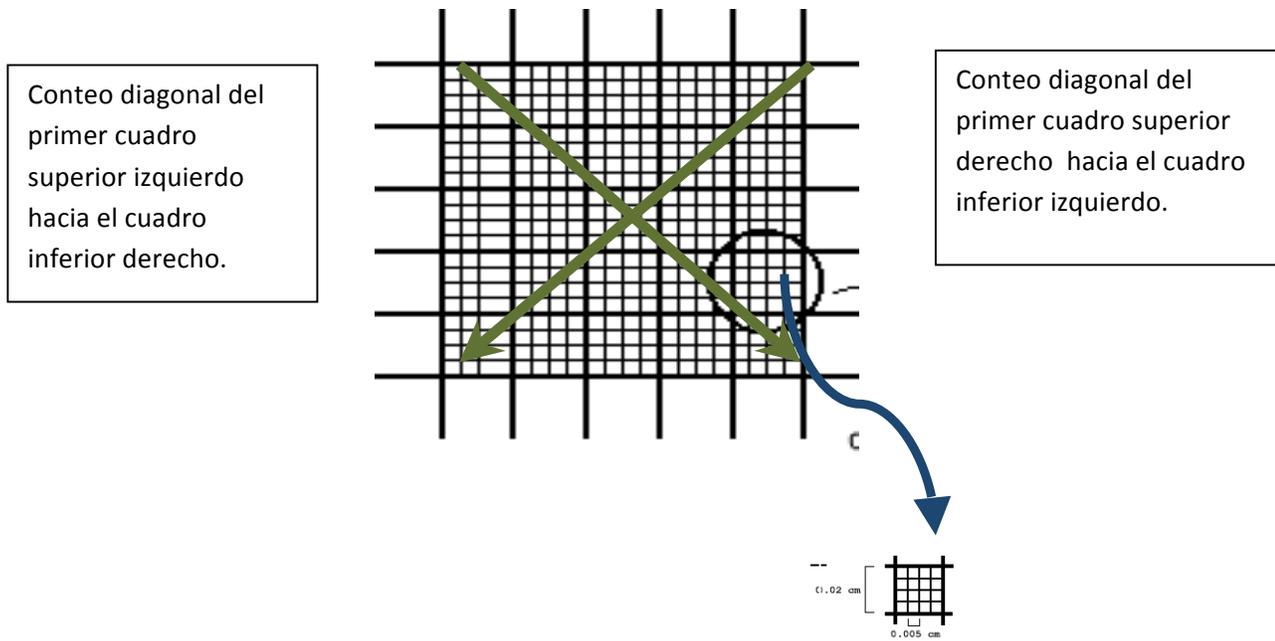


Figura 3. Forma de conteo de bacterias ruminales

El conteo y la concentración de bacterias se calcularon con la fórmula siguiente:

$$\text{No. De bacterias mL}^{-1} = (\text{media de bacterias}) (\text{FD}) (2 \times 10^7)$$

Donde:

FD = factor de dilución.

2×10^7 = constante de conversión a ml

6.7 pH ruminal

La determinación del pH del líquido ruminal se realizó inmediatamente después del filtrado. Se utilizó un potenciómetro ORION modelo 250A , lo cual se debe de calibrar con una solución buffer pH 7.0 y solución buffer pH 4.0, se colocó

la muestra de líquido ruminal filtrado en un frasco de 5 ml de capacidad aproximadamente, y se tomó la lectura del pH.

6.8 Concentración de ácidos grasos volátiles (AGV)

Se utilizaron 80 viales de plástico con capacidad de 2 mL, estos se esterilizaron y se identificaron debidamente por cada animal, utilizando una micropipeta *ependorf Research* de 100-1000 μ L se depositaron 0.375 ml de ácido meta fosfórico al 25% en cada uno de los viales de plástico, posteriormente con una pipeta de 10 mL y un dosificador se extrae 1.5 mL de muestra de líquido ruminal filtrado de cada uno de los corderos y se deposita en cada vial de plástico correspondiente. Se llevaron las muestras a refrigeración a 4° C. Los viales de plástico donde se guardaron las muestras para AGV se sacaron del refrigerador, se introdujeron al rotor y después a la centrifuga (*ependorf, Centrifuge S804*), a 14 000 rpm durante 10 min. Terminada la centrifugación y con la ayuda de una pipeta *Eppendorf Research* 100 a 1000 μ l y las puntas azules se colocó la muestra de cada uno de los viales en los frascos para AGV con capacidad de 1.5 mL y se cerraron con su tapa, la muestra colocada en los frascos para AGV fue solamente el sobrenadante y el sedimento fue desechado. Colocándose en el carrete del Cromatografo de gases.(*Perkin Elmer instruments clarus 500 gas chromatograph*) el estándar que es el número 1 y seguido de los tratamientos. El carrete que tiene capacidad para 82 muestras, cada lectura de cada muestra se realizo de 7 a 8 minutos, el horno estuvo a 140° C, detector a 250° C y la flama a 140° C.

6.9 Determinación de cromo

Cinco días después de cada periodo experimental finalizado, los compuestos del líquido duodenal se descongelaron y se depositaron en un refractario, se secaron por 48 horas a una temperatura de 100° C. Al término del secado se molieron las muestras y se depositaron en frascos de vidrio de 100 mL

con tapas de rosca y se identificaron perfectamente. Las muestras de materia fecal de cada cordero también se descongelaron, terminadas los días de muestreo, se obtiene de cada bolsa una muestra homogénea de 100 g, se secan a la misma temperatura que las muestras de líquido duodenal y se almacenaron en frascos de vidrio.

Se pesaron 0.5 g de muestra en un crisol y se metió a la mufla a 600° C esto se realizó subiendo la temperatura cronológicamente con la duración de 12 horas. Terminado este tiempo se sacaron las muestras de la mufla y se dejan enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente se adicionó 3 mL de solución de ácido fosfórico-sulfato de manganeso y 4 mL de la solución de bromato de potasio. Posteriormente son colocándolas en una platina precalentada y se digieren las cenizas hasta la efervescencia de la solución, se dejaron enfriar los crisoles con la muestra y se diluyeron con agua desionizada, se transfirieron a un matraz volumétrico de 100 mL. Se añadió 10 mL de la solución de cloruro de calcio de 5000 ppm a un matraz volumétrico de 100 mL y se aforó con la dilución de la muestra aforando con agua desionizada y mezclando vigorosamente. Posteriormente se dejó reposar esta solución durante toda la noche con el objetivo que el material en suspensión se deposite en el fondo. Por último se tomaron las lecturas para la determinación del cromo al espectrofotómetro de absorción atómica (VARIAN, Australian) por flama.

6.10 Determinación de purinas

Se determinaron purinas en muestras de líquido duodenal. En la metodología se pesaron 0.5 g de muestra y se colocaron en tubos de rosca. Se peso 0.5 g de RNA y posteriormente se continuó la adición de los demás reactivos:

Se añadió: 2.5 mL de ácido perclórico (HClO_4) con una pipeta automática ajustada a 2.5 mL, posteriormente se agitó con el vortex, hasta que la muestra se

encuentre completamente húmeda. Las muestras se colocaron en baño maría a una temperatura de 90°C por una hora, agitándose en intervalos de 8 minutos, para evitar que se forme una pastilla, terminado se retira la gradilla y se deja enfriar, volviendo a agitar en intervalos de tiempo, dejándose reposar por 5 minutos, se añadió 17.5 mL de Fosfato de Amonio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) 0.285 M, con pipeta automática. Se colocaron en baño maría durante 15 minutos nuevamente, sacándolos se agitan los tubos en el vortex y se colocaron en el vibrador *ultrasonic* por 15 minutos, con agua del baño maría. Se filtraron 3 mL en un tubo de ensayo de 10 mL, en esta fase se utilizó papel filtro del No. 2 y con una pipeta automática se tomó 0.5 mL del contenido, colocándolo en un tubo de centrifuga. Posteriormente se añadió 0.5 mL de Nitrato de Plata (AgNO_3), 9 mL de fosfato de amonio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) 0.2M, aquí termina la primera fase, se tapan los tubos con canicas y se refrigeran. En la segunda fase, se centrifugan a 3500 rpm por 20 minutos a 5° C, terminada la centrifugación se utilizó una bomba de vacío y con un tipo para cada muestra se debe aspirar el líquido, se añadió 10 mL de $\text{H}_2\text{SO}_4 - \text{AgNO}_3$ a pH 2 y después se agitó en el vortex, volviéndose a centrifugar a 3500 rpm, durante 30 minutos a 0° C, y se repite el procedimiento de aspirar el líquido, y se añadió 10 mL de HCL 0.5 N; se cubrió con para film® y se agitó hasta que ninguna muestra quedo empastillada. Colocándose de nuevo los tubos en baño maría por 30 minutos cubiertos con canicas a 90° C, terminado esto se sacaron y se aspiran las escamas flotantes, centrifugando a 3500 rpm durante 10 minutos a 21° C, posteriormente se ingresa la curva estándar con el RNA diluido a 0.25, 0.5 y 0.75 ml en tubos de ensayo, aforándose a 10 mL con HCL 0.5N, se fija en cero el espectrofotómetro con HCL 0.5N y se leen las muestras a 260nm.

6.11 Obtención de la masa bacteriana

Se colectaron 200 mL de líquido ruminal por animal, disolviéndolo con una solución salina de 28g de Cloruro de Sodio en 2 L de agua, colocándole 200 mL de la solución a la muestra de líquido ruminal para posteriormente colocar la

mezcla, se depositó en un matraz Erlenmeyer de 500 mL y se cubrió con papel aluminio con el fin de protegerlo de la luz ambiental, posteriormente el compuesto ruminal se centrifugó en una centrifuga Beckman, modelo J2-21 a una temperatura de 4°C durante 10 minutos a 3750 rpm. Al término de la centrifugación se retiraron los viales con las muestras, se vaciaron en los matraces el sobrenadante; el sedimento se tira y el sobrenadante se vuelve a centrifugar a una temperatura de 4°C a 13500 rpm durante 20 minutos, terminado este procedimiento se decanta el sobrenadante y el sedimento es retirado con una espátula de goma y depositado en una caja de petri. Posteriormente estas muestras se secaron en una estufa FELISA Modelo 2934. Al término del secado las muestras de aislamiento de masa microbiana ruminal se muelen y se conservaron en bolsas herméticas hasta su posterior análisis de selenio.

6.12 Determinación de selenio

La determinación de la concentración de selenio se realizó con la técnica descrita por Baeza *et al* (2005). Las muestras que se mantuvieron en congelación hasta su análisis fueron descongeladas a temperatura ambiente y posteriormente se utilizaron 0.5 gramos o mililitros de la muestra, colocándose en vasos de teflón HP500 plus Falcon USA, la muestra se peso en una balanza analítica (BOECO Germany, con máximo de 120 gr y un mínimo de 0.01 gr). Colocada ya la muestra en el vaso de teflón , se le agregó agua desionizada, ácido nítrico y peróxido de hidrogeno a 30% a diferentes concentraciones para cada tipo de muestra especificada en el cuadro 3. El procedimiento se realizó dentro de una campana de extracción, esto para evitar la salida de gases, colocándole los tapones de teflón HP500 plus a los vasos de teflón, y se incorporaron a la camisa del carrusel a presión para después ser introducida al horno de microondas (Mars 5). La temperatura se elevó a los cuatro minutos a 140° C y así se mantuvo por dos minutos, después se elevó a 180° C y se mantuvo por ocho minutos. Posteriormente se tuvieron las muestras a 200° C, esto durante cuatro minutos

para finalmente enfriarse por cinco minutos. Terminado este proceso se sacaron los vasos de teflón del carrusel y se dejaron enfriar a temperatura ambiente dentro de la campana de extracción, se enjuagaron con ácido clorhídrico 7 molar (HCL 7M) y con este mismo ácido se aforó a 25 mL y finalmente se pasaron a leer al espectrofotómetro de absorción atómica (SpectrAA 800 Varian AUSTRALIA), empleando generador de hidruros (VG 77 Varian AUSTRALIA) como sistema de atomización.

Cuadro 3.- Cantidad de reactivo para las diferentes tipos de muestras

Tipo de muestra	REACTIVOS (ml)		
	Agua desionizada	Acido nítrico	Peróxido de hidrogeno al 30 %
Sangre	5	2.5	1
Liquido ruminal	5	2.5	0.6
TEJIDO			
-Cardiaco	5	10	2
- Muscular			
- Hepático			
- Renal			
Heces fecales			
Liquido duodenal	2	5	1.2
Masa bacteriana			

6.13 Cálculos

La digestibilidad se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Digestibilidad (\%)} = \frac{\text{Nutriente consumido(g)} - \text{Flujo de nutriente (g)}}{\text{Nutriente consumido(g)}} \times 100$$

El flujo de nutrientes se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Flujo de nutriente g/d} = \frac{\text{Nutriente consumido en base seca (g d}^{-1}\text{)} \times \text{Indicador (\% en alimento)}}{\text{Indicador (\% en contenido intestinal o heces)}}$$

(Bondi, 1987)

La determinación de metano y dióxido de carbono se determinó por la ecuación de fermentación teórica propuesta por Wolin (1960).

6.14 Análisis estadístico

El experimento se desarrolló de acuerdo a un diseño completamente al azar. Se evaluaron tres tratamientos, T1 testigo antes del suplemento, T2 y T3 después del suplemento, involucra la fuente inorgánica y orgánica: Selenito de sodio y selenometionina. Se hizo un análisis de varianza de los datos usando el procedimiento SAS 2000, y las medias de los tratamientos se compararon usando la prueba de Diferencia mínima significativa ($P \leq 0.10$). Con respecto a las

diferencias entre las concentraciones de selenio en órganos se realizó con una prueba de T-Student, con una significancia de $P < 0.05$.

El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_j$$

donde:

Y_{ij} = variable respuesta

μ = media general

T_i = efecto del *i*-ésimo tratamiento

E_j = error experimental

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Digestibilidad y absorción de materia orgánica y selenio

En el Cuadro 4 se presenta el consumo de los nutrientes proporcionados a los corderos usados en la prueba metabólica. No existieron rechazos durante los periodos experimentales. El consumo de MS en los animales fue el esperado, proporcionando las dosis orales de Se, definidos en los tratamientos.

Cuadro 4. Consumo de nutrientes en corderos antes y después de suplementar dos fuentes de selenio

	Sin suplemento de selenio	Selenito de sodio	Selenometionina	EEM
Peso corderos, kg	26	26	26	
Consumo (g/día)				
Materia orgánica	724.86	725.09	725.09	0.04
Nitrógeno	16.05	15.02	15.78	0.03
FDN	176.46	175.71	164.1	0.02
Selenio (ppm)	91.92	398.32	398.32	0.02

EEM(Estimación Estándar de la media)

En el Cuadro 5 se presentan los resultados de los nutrientes que fluyeron hacia el duodeno. Se observó un efecto en el nivel de Se en la dieta en el flujo de Se al intestino delgado ($P < 0.01$). con las fuentes de selenio incrementó el flujo de Se más de 3 veces (65.0 vs. 218.1) cuando no se adicionó Se. Lo interesante de los datos es la respuesta positiva de los suplementos de selenio sobre el flujo y la absorción en intestino.

Cuadro 5. Flujo de nutrientes hacia el duodeno de corderos antes y después de suplementar dos fuentes de selenio

	Sin suplemento de selenio	Selenito de sodio	Selenometionina	EEM
Flujo hacia duodeno (g/día)				
Materia orgánica	380.61 ^a	379.22 ^a	440.51 ^a	11.33
N microbiano	6.81 ^a	5.45 ^a	5.05 ^a	0.6
Selenio (ppm)	65.09 ^a	201.29 ^b	235.16 ^b	0.08

^{ab}Letras diferentes en mismo renglón muestran diferencia significativa (P<0.01)

En el Cuadro 6 se presentan los porcentajes de degradación y absorción pregástrica de MO, nitrógeno microbiano y selenio. La suplementación de las fuentes de selenio presentaron incrementos de 69.4 y 40.3% para el selenito y selenometionina. Posiblemente se dio incorporación de este microelemento en los microorganismos ruminales, aunque no se observó diferencias en la eficiencia microbiana ruminal (g NM/kg MO verdaderamente fermentada). El trabajo realizado por Koenig *et al.* (1997) encontraron una tendencia (P = 0.062) en el incremento de utilización de Se en un 27.3%, en los compartimientos pregástricos de corderos alimentados con dieta alta en concentrado. Por lo tanto, estos resultados generan dudas en la fisiología del Se en los compartimientos pregástricos; se sabe que los microorganismos ruminales tienen la capacidad de transformar el Se a formas solubles e insolubles (Serra *et al.*, 1994b), pero se desconoce en que cantidades y cuál es la importancia de este microelemento en el metabolismo microbiano.

Cuadro 6. Digestión o absorción de nutrientes antes y después de suplementar dos fuentes de selenio

	Sin suplemento de selenio	Selenito de sodio	Selenometionina	EEM
Digestión o absorción en rumen, % de consumo				
Materia Orgánica	47.49 ^a	47.69 ^a	39.24 ^a	1.0
Selenio	29.18 ^a	49.46 ^b	40.96 ^b	0.04

^{ab}Letras diferentes en mismo renglón muestran diferencia significativa (P<0.01)

El Cuadro 7 presenta la digestibilidad postruminal de los ingredientes analizados. Los resultados no muestran diferencias significativas en la MO y selenio. El promedio de absorción de Se en intestino entre los tratamientos fue de 31.6%. Este resultado es similar al reportado por Koenig *et al.* (1997) en corderos alimentados con dietas de forraje o concentrado. La similitud en el índice de absorción de Se en el intestino, está estrechamente asociado al pH, el cual resulta menos influido en la absorción de Se que el pH ruminal (Hernandez, 2007).

Cuadro 7. Digestión postruminal de nutrientes antes y después de suplementar dos fuentes de selenio

	Sin suplemento de selenio	Selenito de sodio	Selenometionina	EEM
Digestión postruminal, % del flujo al duodeno				
Materia orgánica	37.21 ^a	32.49 ^a	43.77 ^a	1.34
Se	38.46 ^a	24.54 ^a	31.86 ^a	5.5

^aLetras similares en mismo renglón no muestran diferencia significativa (P>0.05)

El Cuadro 8 presenta la información sobre la digestión total de los nutrientes en los tratamientos. La digestibilidad del MO no se afectó con los suplementos de selenio ($P > 0.05$), no existe información publicada al respecto, por tal motivo la respuesta no es clara y consistente con otros trabajos previos del grupo de investigación.

La digestión del Se en el tracto total fue de un 61 a 68% del total de Se consumido. Los trabajos reportados por Serra *et al.* (1994a) mencionan una digestibilidad del 67 a 73% con dietas que recibieron heno de Timothy. Por otro lado, Koenig *et al.* (1991) reportan una digestibilidad de Se de 3 a 11% en vacas lecheras. La absorción de Se depende de la forma química de este elemento (Koenig *et al.*, 1991) y de la composición de la dieta. Harrison y Conrad (1984) reportan una máxima absorción de Se en vacas lecheras cuando el calcio en la dieta fue de 0.8% base seca.

Hernández *et al.* (2007) observaron que el suplemento de selenito de sodio tiende a incrementar la eficiencia de la síntesis de proteína microbiana. Por lo tanto, el incremento de eficiencia podría ser mayor debido a que la digestión de materia orgánica en el rumen fue deprimida cuando se incluyó Se en la dieta. En ovinos, la absorción y retención de selenometionina, como forma orgánica de selenio es mejor que selenio como selenito (Peter *et al.*, 1982). Koenig *et al.*, 1997 quien encontró una mejor absorción y retención para sales de selenio inorgánico, así también Alfaro *et al.* (1987) quien reporta que la absorción de selenito fue mejor que la absorción de selenio orgánico. Así, esta última información coincide con lo encontrado en este trabajo.

La concentración utilizada estuvo por arriba del rango normal que recomienda los actuales requerimientos de NRC (2007), no se llegaron a niveles tóxicos. Actualmente existe controversia sobre la concentración máxima tolerable de Se. El trabajo realizado por Cristaldi *et al.* (2005) revela que concentraciones en la dieta de hasta 10 ppm de Se, pueden considerar como los máximos tolerables para ovinos y por el otro lado los corderos y cabritos que sufren la

enfermedad de músculo blanco, presentan niveles de selenio menores de 0.05 ppm en sangre, suero sanguíneo y músculo y menores de 0.1 ppm en hígado (base seca) (Shamberger, 1981).

Cuadro 8. Digestión total de nutrientes antes y después de suplementar dos fuentes de selenio

	Sin suplemento de selenio	Selenito de sodio	Selenome- tionina	EEM
Digestión total, %				
Materia orgánica	67.79 ^a	65.65 ^a	66.22 ^a	1.34
Se	61.32 ^a	56.02 ^a	68.53 ^a	5.5

^aLetras similares en mismo renglón no muestran diferencia significativa (P>0.05)

7.2 Microorganismos, ácidos grasos volátiles y selenio en rumen

El Cuadro 9 presenta las variables medidas en el rumen. Estas incluyen concentraciones de pH, microorganismos, selenio, producción de ácidos grasos volátiles y estimaciones de dióxido de carbono y metano.

Cuadro 9. Concentraciones de microorganismos, selenio y producción de ácidos grasos volátiles, Co2 y metano en rumen antes y después de suplementar dos fuentes de selenio

	Sin suplemento de selenio	Selenito de sodio	Selenome- tionina	EEM
pH rumen	6.2 ^a	6.02 ^b	6.2 ^a	0.18
Protozoarios , ml x 10 ⁶	8.725 ^a	6.09 ^b	9.97 ^c	
Bacterias, mL x 10 ⁹	1.52 ^a	2.08 ^b	2.34 ^b	
Se en Bacterias	0.33 ^a	0.33 ^a	0.32 ^a	0.05
Se en liquido rumen	0.083 ^a	0.092 ^a	0.1 ^a	0.03
AGV (mM)				
Acetato	55.85 ^a	55.2 ^a	57.9 ^a	0.03
Propionato	30.45 ^a	32.3 ^a	28.3 ^a	0.05
Butirato	13.7 ^a	12.5 ^a	13.9 ^a	0.03
Metano (mM)	0.27 ^a	0.25 ^a	0.28 ^a	0.038
CO2 (mM)	0.56 ^a	0.54 ^a	0.56 ^a	0.042

^{abc}Letras diferentes en mismo renglón muestran diferencia significativa (P<0.01)

El pH en el rumen disminuyó en un 2.9 % (P< 0.01) cuando se suplementó selenito de sodio, mientras la selenometionina no presentó diferencia significativa con el grupo testigo, al grupo de corderos que se les administró selenometionina, incrementó el pH también en un 2.9% comparado con los corderos suplementados con selenito de sodio.

Se presentaron diferencias en la concentración de las bacterias totales en rumen. Después de suplementar las fuentes de selenito y selenometionina, incrementó la concentración de bacterias en un 36.8 y 54% respectivamente. Con estos resultados es lógico suponer la participación del selenio en el incremento de la tasa productiva de los microorganismos, aunque cuando se determinó la

concentración de selenio en la masa microbiana y el selenio ionizado en el líquido ruminal no hubo diferencias significativas ($P > 0.05$), considerando la importancia del selenio, es utilizado por las bacterias para ser transformado o metabolizado para actividades de los propios microorganismos. Sin embargo este comportamiento no se observó en la concentración de protozoarios ($p > 0.05$), lo que hace suponer su escasa importancia del selenio en sus vías metabólicas.

El Se en la dieta basal y el suplementado, puede ser incorporado o transformado por los microorganismos del rumen, probablemente como Se de formas insolubles o selenoaminoácidos (selenocisteína y selenometionina). Serra *et al.* (1994a) mencionan formas insolubles de selenio en el rumen, indicando que las necesidades de selenio por los microorganismos se cubren con los niveles más bajos de selenio en la dieta. Whanger *et al.* (1978) demostraron la incorporación de selenometionina dentro de la microbiota del rumen; el Se también puede incorporarse a cisteína como selenocisteína o a formas insolubles reducidas conocidas como selenuros.

La concentración molar de ácidos grasos volátiles, la producción de dióxido de carbono y metano no mostraron ninguna diferencia significativa antes y después de los suplementos de selenio en corderos ($P > 0.05$). Contrariamente Naziroglu *et al.* (1997) reportaron mayor concentración de ácido butírico (14.7%) si el Se se suplementa como selenito de sodio (0.3 ppm en alimento). De igual forma, otros autores han reportado que la producción de ácidos acético, propiónico, butírico y ácidos grasos totales se incrementan con la suplementación de Se (Hidiroglou y Lessard, 1976), vitamina E o Se/vitamina E (Naziroglu *et al.*, 1997). Serra *et al.* (1994b) reportaron que la tasa de suplementación de 0.2 ppm en la dieta no tuvo una influencia significativa en la producción de ácidos grasos volátiles. Serra *et al.* (1994a)

Las concentraciones de selenio en el líquido ruminal pueden ser de 0.3 a 6.29 $\mu\text{g/g}$ en corderos sin suplemento y con un suplemento de 0.2 $\mu\text{g/g}$ Se en la dieta, respectivamente (Serra *et al.* 1994a). La respuesta en el incremento se

puede deber a la reducción o metabolismo del selenito. Sin embargo en este estudio no se observó efecto de los suplementos de selenio en la concentración de líquido ruminal. Se especula que raciones altas en concentrado reducen la disponibilidad de Se en rumen y en consecuencia la disminución de absorción Gerloff, (1992). No existen evidencias que el Se se absorba en la pared del rumen. Al parecer, los microbios del rumen son capaces de reducir las sales de Se como selenato o selenito de sodio a Se elemental, forma que no puede ser utilizada por el animal hospedador (Hudman y Glenn, 1984). Pero también los microbios del rumen pueden incorporar el Se ingerido dentro de sus células (Hudman y Glenn, 1984) e incorporarlo al organismo animal a través de la masa microbiana que es degradada en la porción del intestino delgado. Serra *et al.* (1994) observaron que el ambiente del rumen influía significativamente en el contenido de Se en el líquido ruminal en sus diferentes fracciones. El Se fue utilizado por las bacterias y se presentó un incremento en la población, pero no en la concentración de selenio bacteriano, cuando se suplementaron ambas fuentes. Las bacterias ruminales son capaces de metabolizar el Se inorgánico (Hudman y Glenn, 1984; Hidiroglu y Lessard, 1976), se desconoce si la utilización del Se disponible en el ambiente ruminal dependa de los microorganismos presentes, debido a la influencia de la dieta consumida por el animal. Al parecer, el Se no es un elemento esencial para los microorganismos celulolíticos del rumen (Serra *et al.*, 1994). El Se inhibe los microorganismos celulolíticos y probablemente estimule los microorganismos proteolíticos, indicando un ligero mejoramiento en la digestibilidad de proteína (Serra *et al.*, 1994; Serra *et al.*, 1994a), pero estos supuestos deben ser más investigados.

El Cuadro 10 presenta los resultados de la concentración de selenio en sangre, a los 5 días de administrar las fuentes de selenito y selenometionina, el selenio incrementó el doble en el tejido sanguíneo, esta respuesta fue totalmente diferente a los 14 días después de iniciar los suplementos. La diferencia de respuestas puede tener una explicación biológica, inicialmente cuando se administraron las fuentes, el organismo animal refleja este incremento en sangre y

posteriormente puede normalizarse y buscar otras vías de depósito como tejido muscular e hígado.

Cuadro 10. Concentraciones de selenio (ppm) en sangre de corderos antes y después de suplementar dos fuentes de selenio

	Sin suplemento de selenio	Selenito de sodio	Selenometionina	EEM
Sangre 5d	0.122 ^a	0.242 ^b	0.205 ^b	0.03
Sangre 14d	0.120 ^a	0.124 ^a	0.124 ^a	0.01

^{ab}Letras diferentes en mismo renglón muestran diferencia significativa (P<0.01)

Hudson *et al.* (1988) observaron un incremento de Se sanguíneo después de la primera semana de la administración oral de comprimidos con Se. Sin embargo, en este trabajo, aunque solo hubo diferencias en el primer muestreo, las concentraciones de selenio en ambos tratamientos resultaron adecuadas como concentración idónea que no refleja la deficiencia de selenio (Gerloff, 1992). Shiobara *et al.* (1998) proporcionaron dietas con dosis excesivas de selenito de sodio y selenometionina (2 ppm) por un periodo de 12 semanas y las concentraciones de selenio sanguíneo de ratas suplementadas con selenometionina fueron significativamente mayores (P < 0.05) que las ratas suplementadas con selenito de sodio, pero esta respuesta no se observó en plasma .

Controversialmente al trabajo, se menciona un incremento de Se en sangre más lentamente con la suplementación y declina de igual manera sin suplemento (Gerloff, 1992). Otras investigaciones sugieren que las concentraciones en suero e hígado son las idóneas para la medición del estatus de selenio (Miller *et al.*, 1974). En el caso de biopsias y necropsias se ha determinado que la mayor concentración del mineral se encuentra en músculo esquelético y posteriormente

en hígado y riñón (Stowe y Herdt, 1992), por otro lado otros autores mencionan una distribución del micro elemento en el organismo de los ovinos: los riñones (6.5%), hígado (4.4%), páncreas (.46%), bazo (.48%), tracto digestivo (10.08%), pulmón (2.63%), músculo cardíaco (.99%), músculo esquelético (33.51%), cerebro (.46%), sangre (8.57%), hueso (7.3%), piel (7.16%), lana (17.41%) (Grace y Clark, 1991). En este estudio la mayor concentración de selenio fue en riñón, hígado y demás tejidos (Cuadro 11).

Cuadro 11. Concentraciones de selenio (ppm) en tejidos de corderos después de suplementar dos fuentes de selenio

	Selenito de sodio	Selenometionina	EEM
Riñón	0.73 ^a	0.66 ^a	0.075
Musculo	0.31 ^a	0.34 ^a	0.07
Hígado	0.53 ^a	0.36 ^a	0.08
Corazón	0.32 ^a	0.30 ^a	0.04

^aLiterales similares no muestran diferencias significativas (P > 0.05).

8 CONCLUSIONES

1. La absorción y digestibilidad del selenito de sodio y selenometionina no mostraron diferencias significativas en el tracto digestivo.
2. La concentración de selenio en los microorganismos del rumen tuvieron un comportamiento similar con las dos fuentes de selenio.
3. No se presentaron variaciones en la producción de ácidos grasos volátiles con las dos fuentes de selenio suplementadas.
4. Las concentraciones de selenio en tejidos se acumularon en forma similar con las dos fuentes de selenio suplementados.
5. Se recomienda utilizar el selenito de sodio como fuente disponible de selenio, ya que presenta las mismas ventajas que el selenio orgánico (selenometionina) y mejor disponibilidad por su costo económico.

9 LITERATURA CITADA

- Abd El Ghany-hefnawy, R. López-Arellano, A. Revilla-Vázquez, J.E. Ramírez-Bribiesca, J. Tórtora. 2007. The relationship between fetal and maternal selenium concentrations in sheep and goat. *Small Rumin. Res.*73: 174-180.
- Alfaro, EMW. Neathery, WJ, miller Rp., Gentry CT., Crowe AS., Fielding RE., Etheridge DG., and Blackmon DM. 1987 effects of varying the amounts of dietary calcium on selenium metabolism in dairy calves. *J. dairy Sci.* 70:831.
- Allen, W.M., Parr, W.H. Anderson, P.H. Berrett, S. Bradley, R.Patterson, D.S.P. 1975. Selenium and the activity of glutathione peroxidase in bovine rythrocytes. *Vet. Record* 43: 360-361.
- Baeza.HG, Lopez AR,Revilla, VA. 2005. Validación de un método de digestión ácida en horno demicroondas para la cuantificación de selenio por absorción atómica en materia prima y fluido ruminal. Tesis de Licenciatura en Química Farmaceutica Biologa.Fes-C,UNAM.
- Beckett GJ, Arthur JR, Miller SM, McKenzie RC. Minerals and Immune responses-selenium, In *Diet and Human Immune Fuction*, Humana Press. 2004: pp 217-240
- Blodgett, D.J., Kornegay, E.T., Shurig, G.G., Meldrum, J.B. y Bonnette, E.D. 1986. Vitamin E-Selenium and immune response to selected antigens in swine. *Nutrition Reprod. Intern.* 38:37-43.

Bondi, A. A. 1987. Animal nutrition. Wiley-interscience Publication. New York. 540 pp.

Burk RF,Hull KE,Read R,Bellew T.Response of rat selenoprotein-P to selenium administration and fate of its selenium. Am J physiology 1991; 261: E26-E30.

Burk, R., and K. Hill. 1993. Regulation of selenoproteins. In: R. Olson, R. Bier, and D. McCormick (Ed.) Annu. Rev. Nutr. Vol. 13. pp 65-81. Annual Reviews, Palo Alto, CA.

Cai, X.-J., E. Block, P. C. Uden, X. Zhang, B. D. Quimby, and J. J. Sullivan. 1995. Allium chemistry: Identification of selenoamino AZZium Chemistry: Identification of Selenoamino Acids in Ordinary and Selenium-Enriched Garlic, Onion, and Broccoli Using Gas Chromatography with Atomic Emission Detection J. Agric. Food Chem. 43, 1754-1 757

Cristaldi LA, mc Dowell LR, Buergelt CD, Davis PA, Wilkinson NS, Martin FG. 2005. Tolerance of inorganic selenilenium in wether sheep. Small Rum. 56; 205-213.

Cruz M.R., Hernández C.L.M., Guerrero L.M.I y Pérez C.M.L.,Ramirez B.E. 2005. Fisiología Digestiva en coderos alimentados con dietas altas en energía y dos concentraciones de selenio y magnesio. XXIX Congreso Nacional de Buiatria Pag 277.

Draft Toxicological Profile for Selenium.U.S Departament of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry: 1-386,2001.

Dietrich, B. y Kyriakopoulos, A. 2001. Mammalian selenium-containing proteins. Ann. Rev. Nutr. 21: 453-473.

Ellison, R.S. 1992. A review of copper and selenium reference ranges in cattle and sheep. Proceeding 22nd Seminar sheep and beef cattle society New Zealand Vet. Assoc. Publicación No.154.3-17. Nueva Zelanda.

FDA. 1987. Food additives permitted in feed and drinking water of animals: Selenium. Final rule. Fed. Reg. 52:10887.

Flores, C., Caja, G., Salama, A.D.J., Saldo, J. Blandon, J.C, Fandiño, I, Bertin, G. 2007. Comparación de efectos de la suplementación con selenio orgánico (Sel-plex) e inorgánico en cabras. Ciencia Animal. 2007

Gerloff, B.J. 1992. Effect of selenium supplementation on dairy cattle. J. Anim. Sci., 70:3934-3940.

Grace N. D. y Clark, R.G. 1991. Trace element requirements, diagnosis and prevention of deficiencies in sheep and cattle. En Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants ed. Tsuda, T. Sasaki y Kawashima, eds. Academic Press., Londres

Hansard, S.M. 1983. Microminerals for Ruminant Animals. Nutrition Abstracts and reviews - series B Commonwealth Bureau of Nutrition, January, 53: 1-43.

Harrison JH, Hancock DD and Conrad HR. Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. J. Dairy Sci. 1984; 67: 123-132

Hernández C.L.M. 2007. Estudio de la fisiología digestiva, características de la canal y calidad de la carne en corderos en crecimiento – finalización con y sin suplementación de selenio y magnesio. Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa.D.F., Mexico.

Hidiroglu, M. and J.R. Lessard. 1976. The effect of selenium or vitamin E supplementation on volatile fatty acid content of rumen liquor in sheep fed a purified diet. Inter. J. Vit. Nutr., Res. 46: 458-463.

Himeno,S.and Imura, N.2000.New aspects of physiological and pharmacological roles of selenium,J. Health Sci. 46:393-398.

Hudman, J.F. and A.R. Glenn. 1984. Selenite intake and incorporation by *Selenomonas ruminantium*. Arch. Microbiol. 140: 252-256.

Hudson, G.L., T.H. Brown, B.R. Kempe and R.K. Turnbull. 1988. Trace element and vitamin B12 status of sheep given an oral dose of one, two or four

soluble glass pellets containing copper, selenium and cobalt. Aust. J. Exp. Agric. 28: 299-305

Jackson, M. J. 1987. Muscle damage during exercise: possible role of free radicals and protective effect of vitamin E. Proceeding Nutrition Society, 46: 77-80.

Jacques, P. F. Hartz, S.C. Mc Gandy, R.B. Russel, R.M. y Jacob, R.A. 1988. Effect of Vitamine E supplement intake on HDL total cholesterol in Tle elderly. Nutrition . Report. Intern. 3:363-369.

Koenig KM,Buckley WT,Shelford JA. True absorption of selenium in dairy cows: stable isotope tracer methodology and effect of dietary copper. Can J. Anim. Sci. 1991;71:175-183.

Koenig,K.M., L.M.Rode,R.D.H.Cohen and W.T.Buckley. 1997. Effects of diet and chemical form of selenium on selenium metabolism in sheep J.Anim. Sci.75:817-827.

Langlands, J.P. Donald, G.E. Bowles, J.E. y Smith, A.J. 1991a. Subclinical selenium insufficiency 1. Selenium status and the response in liveweight and wool production of grazing ewes supplemented with selenium. Austr. J. Experim. Agric. 31:25-31.

Lee,J.; Knowles, S.O and Judson, G.J.2002. Trace-element and vitamin nutrition of grazing sheep. CAB International,pp.285-310

Levander, O. 1983. Considerations in the design of selenium bioavailability studies. Fed. Proc. 42:1721-1725.

MacPherson, A. y Chalmers, J.S. 1984. Methods of selenium supplementation of ruminants. Vet. Record, 115:544-546.

Mahan, DCTR. Cline, and B. Richert. 1999. Effects of dietary levels of selenium-enriched yeast and sodium selenite as selenium sources fed to growing-finishing pigs on performance, tissue selenium, serum glutathione peroxidase activity, carcass characteristics and loin quality. J. Anim. Sci. 77:2172-2179.

McMurray, C. H. 1989. Nutritional supplies, requirements and effects of deficiencies of vitamin E and selenium. Proceedings of the Roche Symposium, Londres, pp 42.

Miller, W.J. 1974. New concepts and developments in metabolism and homeostasis of inorganic elements in dairy cattle. A review. J. Dairy Sci. 50:1549-1560.

Miyazaki, S. 1991. Effect of chemicals on glutathione peroxidase of chick liver. Res. Vet. Sci. 51:120-122.

Naziroglu, M. M. Aksakal, and E. Kuzularda. 1997. Vitamini ve selenyumun rumen protozoonlari Üzerine etkileri. Tr. J. Vet. Anim. Sci. 21:81-90.

NRC.1980. Mineral tolerance of domestic animals, Subcommittee on mineral toxicity in animals, National Academy of Sciences, Washington, D.C.

NRC.1983. Selenium in Nutrition, National Academy Press, Washington, D.C.
Nutricion mineral de ruminates en pastoreo. Academic Press.

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

NRC Nutrient requirements of small ruminants 2007, National research council, Pág. 134-137

O'Dea, J. D. y Agar, N.S. 1990. Glutathione and 2,3-diphosphoglycerate in the blood of hypoxic ruminants. Res. Vet. Sci. 29:153-156.

Peter DW, Hunter RA, Hudson DR. Optimum Selenium grain size for selenium pellets. Quarterman 1966;

Rotruck JK, Pope AI, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstrawg. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science 1973; 179:588-590.

Ramirez-Bribiesca, J.E.; Tortora, J.L.; Huerta, M.; Aguirre,; Hernandez, L.M 2001.
Diagnosis of selenium status in grazing dairy goats on the Mexican Plateau.
Small Rumin. Res. 41,81-85

SAS .2000. SAS/STAT Guide for personal computer. Vers. 8. SAS Institute. Cary, NC,
USA. 1028 p.

Shamberguer, J.R. (1981). Biochemistry of Selenium. Plenum Press. New York and
London.

Schwarz, K., and C. Foltz. 1958. Factor 3 activity of selenium compounds. J. Biol.
Chem. 233:245-251.

Serra, A.B., K. Nakamura, T. Matsui, T. Harumoto, T. Fujihara. 1994a. Inorganic
selenium for sheep I. Selenium balance and selenium levels in the different
ruminal fluid fractions. Asian J. Anim. Sci. 7: 83-89.

Serra, A.B., K. Nakamura, T. Matsui, T. Harumoto and T. Fujihara. 1994. Inorganic
selenium for sheep.II. Its influence on rumen bacterial yield, volatile fatty
acid production and total tract digestion of timothy hay. Asian J. Anim. Sci.
7: 91-96.

Shiobara, Y.; Yoshida, T. and Suzuki, K. Z. 1998. Effects of dietary selenium species on Se concentrations in hair, blood and urine. *Toxicology and Appl. Pharm.* 52:309-314.

Stowe, H. D. y Herdt, T. M. 1992. Clinical Assessment of selenium status of livestock. *J. Anim. Sci.* 70: 3928- 3933.

Sunde, R. A. 1990. Molecular biology of selenoproteins. *Annu. Rev. Nutr.*, 10:451-474.

Surai, P. F. Selenium in Poultry Nutrition. Antioxidant Properties, Deficiency and Toxicity. *World's Poultry Sci. J.* Vol. 58, September 2002

Tasker, J. B. 1992. Current options in selenium supplementation. Proceeding of the 22nd seminar sheep and beef cattle society New Zealand Veterinary Association incorporating the NZVA conference. Publication No. 154. 53-59.

Ullrey, D. E. 1992. Basis for regulation of selenium supplements in animal diets, *J. Anim. Sci.* 70: 3922-3927.

Ullrey, D. E.; Bradley, P. S.; Whitter, K. 1977. Selenium supplementation of diets for sheep and beef cattle. *J. Anim. Sci.* 45:559

Whanger PD, Weswing Ph, Oldfield JE. selenium, sulfur and nitrogen levels in ovine rumen microorganisms. *J. Anim. Sci.* 1978, 46: 515-519.

Wilson, J. 1981. Particles in sources of magnesium. thesis dissertation. University of Florida.

Yeh, J. Y., S. C. Vendeland, Q. P. Gu, J. A. Butler, B. R. Ou, and P. D. Whanger. 1997. Dietary selenium increases selenoprotein W levels in rat tissues. J. Nutr. 127:2165-2172.

