



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

***CAMPUS* MONTECILLO**

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

**MEJORAMIENTO DEL FUNCIONAMIENTO
OVÁRICO EN CABRAS, MEDIANTE EL
SUMINISTRO DE SELENIO ORGÁNICO**

Sara Diana Vázquez Hernández

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2014

La presente tesis titulada: **Mejoramiento del funcionamiento ovárico en cabras, mediante el suministro de Selenio Orgánico**. Realizada por la alumna: **Sara Diana Vázquez Hernández** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

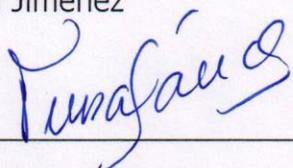
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



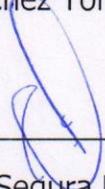
Leonor Miranda Jiménez

ASESOR



María Teresa Sánchez Torres-Esqueda

ASESOR



Obdulia Lourdes Segura León

MEJORAMIENTO DEL FUNCIONAMIENTO OVÁRICO EN CABRAS, MEDIANTE EL SUMINISTRO DE SELENIO ORGÁNICO

Sara Diana Vázquez Hernández

RESUMEN

Un mineral esencial en la dieta de animales es el Selenio (Se) y su deficiencia se refleja en alteraciones fisiológicas como retención placentaria, muerte embrionaria y disminución de la fertilidad entre otras. La actividad ovárica se puede mejorar con aplicación de hormonas, las cuales generalmente son caras y de alto riesgo para el humano. La utilización de Se puede ser una alternativa para mejorar la actividad ovárica. Con el objetivo de determinar si la aplicación de Se orgánico (Se-O), en forma de selenometionina, mejora el funcionamiento ovárico en cabras, se realizó esta investigación utilizando 18 cabras asignadas a dos grupos: Grupo A) Se-O 300 mg vía oral (Levadura Sel-plex) $\text{animal}^{-1} \text{ día}^{-1}$ durante 16 días, $n=9$; Grupo B) sin suministro, como testigo. Se realizaron dos ovariectomías los días 13 y 25, posterior al inicio de suministro de Se-O, las cuales permitieron observar el efecto del Se (inmediato o tardío). Una vez obtenido el ovario funcional, se contaron y midieron folículos y cuerpos lúteos. Microscópicamente se evaluaron estructuras ováricas y la concentración sérica de estradiol y progesterona. Se utilizó un diseño completamente al azar (Modelos Lineal General; PROC GLM) y comparación de medias mediante Tukey ($P \leq 0.05$). Se observaron diferencias en tamaño de ovario, folículos pequeños y preovulatorios, así como en cuerpos lúteos ($P < 0.05$). Al microscopio, las estructuras ováricas mostraron irrigación abundante, de forma notoria, en la capa de células de la teca. Las concentraciones de estradiol y progesterona no mostraron cambios por el suministro de Se-O ($P > 0.05$). El suministro de Se-O favoreció el desarrollo de folículos pequeños, preovulatorios y cuerpos lúteos.

Palabras clave: Estructuras ováricas, Estradiol, Progesterona. Levadura rica en selenio.

OVARIAN FUNCTION IMPROVEMENT IN GOATS, THROUGH THE PROVISION OF ORGANIC SELENIUM

Sara Diana Vázquez Hernández

ABSTRACT

Selenium (Se) is an essential mineral in animal nutrition, its deficiency is reflected in physiopatological changes such as placental retention, embryonic death, and reduced fertility, among others. Ovarian activity can be improved by hormones application, which is usually expensive and risky for human health. Selenium can be used as an alternative to improve ovarian activity. The aim of this study was to determine whether the organic Se (Se-O; selenomethionine) application improves ovarian function in goats. Research was conducted using 18 goats, assigned into two groups: Group A) Se-O at 300 mg animal⁻¹ d⁻¹ oral (Yeast Sel-plex) for 16 days, n = 9; Group B) No selenium (control). Two ovariectomies were conducted at 13 and 25 days after Se-O supply to define the effect of Se (immediate or delayed). Functional ovaries were obtained; corpus luteum and follicles counted and measured. The ovarian structures were evaluated microscopically and estradiol and progesterone serum concentration evaluated. Data were analyzed using a completely randomized design (General Linear Model, PROC GLM) and means comparison by Tukey test ($P \leq 0.05$). Differences in ovarian size were observed, small and preovulatory follicles, and corpora lutea ($P < 0.05$). Microscopic observations revealed ovarian structures with abundant irrigation especially at the theca cells layer. Selenium administration did not induced progesterone and estradiol concentrations changes ($P > 0.05$) Supply of Se-O favored the development of small and preovulatory follicles and also corpora lutea.

Keywords: ovarian structures, Estradiol, Progesterone. Yeast rich in selenium.

DEDICATORIA

A **Dios**, por haberme permitido llegar hasta aquí.

A mis padres **Conrado Vázquez** y **Juana Hernández**, gracias por: Su apoyo moral, económico, amor, cariño, amistad y más... gracias por creer en mí.

Con todo mi amor a **Carlos Silva**, gracias por ser el motor de mi vida.

A mis sobrinos; **Julián Lima**, **Karen Lima** y **Luis David Lozano**, espero algún día ser un ejemplo para ustedes.

Y con mucho cariño a **Josafat Silva**, gracias por no permitirme dejar cosas inconclusas y por todo el apoyo brindado en los momentos difíciles.

A mis compañeros y amigos de generación, **Yesenia Caballero**, gracias por lo bueno y lo malo que vivimos juntas. **Haydée Vallejo**, **Roxana Camargo**, **Julio Cesar Ayala** y **Edgar Valencia**, gracias por los buenos momentos.

A **M. en C. Maricela Ruiz** gracias por creer en mí y por tu amistad.

A la memoria de la †Dra. Minerva Muñoz Gutiérrez

Gracias por mostrarme este camino y ayudarme a llegar hasta aquí, gracias por haber sido una guía para mí, por compartir sus conocimientos conmigo, continuare por este camino, pero siguiendo su ejemplo.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)**, por la beca otorgada durante mis estudios de maestría.

Al **Colegio de Postgraduados**, por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de Maestría en Ciencias y darme herramientas necesarias para la realización de la misma. A las **Líneas Prioritaria de Investigación Innovación Tecnológica (LPI-16) y Sistemas de Producción Agrícola, Pecuaria, Forestal, Acuícola y Pesquera (LPI-11)** del Colegio de Postgraduados, por el financiamiento otorgado para la realización de éste trabajo de investigación.

Al Comité Producto-Caprino; especialmente, al representante Profesor **Abel Cobos Estrada** y a los Productores **Luis Delgado Amaro y Cirilo Delgado Amaro** por las facilidades prestadas durante la etapa de experimentación.

A:

Dra. **Leonor Miranda Jiménez**. Agradezco su dirección durante este trabajo de investigación. Gracias por su invaluable apoyo, dedicación y las horas de discusión y cuestionamiento.

Dra. **María Teresa Sánchez Torres-Esqueda**. Por el tiempo brindado en la revisión de esta tesis, gracias por sus comentarios y sus aportaciones.

Dra. **Obdulia Lourdes Segura León**. Por su aportación a este trabajo, gracias por las críticas constructivas y el tiempo invertido en mi formación.

†Dra. **Minerva Muñoz Gutiérrez**. Por las críticas constructivas, por lo regañón, y por ser parte de este trabajo de investigación.

Biólogo **Mario Cárdenas** por su ayuda para desarrollar el radioinmunoanálisis de progesterona y estradiol. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubiran, Departamento de Biología de la Reproducción, Laboratorio de Hormonas Proteicas.

Dr. **Rogelio Carrillo González** y al M. en C. **Jaime Cruz Díaz** por la orientación en valoración de Selenio.

Bióloga **Greta H. Rosas Saito**, por su apoyo en la detección de Selenio por la técnica de microscopía electrónica.

Dr. **Humberto Vaquera** por su orientación en el análisis estadístico, gracias por su tiempo y su paciencia.

Dr. **Adrian R. Quero** por sus comentarios en la escritura de esta tesis, gracias por su apoyo y dedicación.

M.V.Z. **Rafaela Segundo** por el apoyo brindado en la realización de ovariectomías.

Alltech, México, por la donación de selenometionina, utilizada en el experimento.

A todos mis compañeros de generación por su gran apoyo y amistad, gracias por compartir esta etapa conmigo.

CONTENIDO

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
ABREVIATURAS UTILIZADAS.....	X
I. INTRODUCCIÓN	1
II. JUSTIFICACIÓN	3
III. OBJETIVOS	4
3.1 Objetivo general.....	4
3.2 Objetivos particulares.....	4
IV. HIPÓTESIS	4
4.1 Hipótesis general.....	4
4.2 Hipótesis particulares.....	4
V. REVISIÓN DE LITERATURA	5
5.1 Generalidades de la cabra.....	5
5.2 Estructuras ováricas.....	6
5.2.1 Folículos.....	6
5.2.2 Estructura folicular.....	7
5.2.3 Cuerpo lúteo o cuerpo amarillo.....	8
5.3 Ciclo reproductivo de cabra.....	10
5.4 Ciclo estral de la cabra.....	10
5.5 Funciones de la progesterona y estradiol.....	12
5.6 Propiedades del Selenio.....	13
5.7 El Selenio y los radicales libres.....	14
5.8 Influencia del Selenio en la glutatión peroxidasa (GSH-Px).....	15
5.9 Selenio y su relación con vitamina E.....	16
5.10 Tipos de Selenio.....	16

5.11 La reproducción y el Selenio.....	18
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
6.1 Localización.....	20
6.2 Manejo de los animales antes y durante el experimento.....	20
6.3 Sincronización de estros.....	21
6.4 Tratamientos con selenometionina (Se-O).....	22
6.5 Concentración sérica de progesterona y estradiol.....	24
6.6 Respuesta al Se-O en ovarios.....	24
6.7 Diseño experimental.....	24
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
VIII. CONCLUSIONES.....	32
IX. LITERATURA CITADA.....	33
X. ANEXOS.....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Esquema del ovario.....	6
Figura 2	Foliculogénesis.....	7
Figura 3	Desarrollo del cuerpo lúteo y su relación hormonal.....	10
Figura 4	Fases del ciclo estral de la cabra.....	11
Figura 5	Biosíntesis de estradiol.....	12
Figura 6	Estructura de la molécula de la glutatión.....	15
Figura 7	Estructura química de la metionina y selenometionina.....	17
Figura 8	Número y tamaño de folículos encontrados en ovarios de cabras como efecto inmediato o tardío del suministro de Se-O.....	25
Figura 9	Cuerpos lúteos obtenidos de los ovarios de cabras como respuesta inmediata o tardía al suministro de Se-O.....	26
Figura 10	Imágenes de folículos como respuesta al suministro de Se-O, en cabras.....	27
Figura 11	Estructuras ováricas normales y con irrigación abundante, como respuesta al suministro de Se-O, en cabras.....	28
Figura 12	Largo, ancho y grosor de ovarios obtenidos de cabra, con y sin Se-O.....	29
Figura 13	Concentraciones plasmáticas de estradiol, como respuesta al suministro de Se-O, en cabras.....	30
Figura 14	Concentraciones plasmáticas de progesterona, como respuesta al suministro de Se-O, en cabras.....	31

ABREVIATURAS UTILIZADAS

A= Antro	Na₂SeO₄= Selenato de sodio
CV= Cavidad	Na₂SeO₃= Selenito de sodio
CF= Células foliculares	NH₂= Radical Amino
CIDR= Dispositivo intravaginal	ng/ml= nanogramos por mililitro
cm= Centímetros	O= Oxígeno
CG= Células de la granulosa	O₂⁻= Radical superóxido
CL= Cuerpo lúteo	OH⁻= Radical hidroxilo
CLC= Cuerpo lúteo cavitario	OC= Oocito
CLN= Cuerpo lúteo normal	PCOS= Poli-quisticos
CTE= Células de la teca externa	P4= Progesterona
CTI= Células de la teca interna	PGF2α= Prostaglandina F2 α
Con Se= Con Selenio	pg/ml= Pico gramos por mililitro
E2= Estradiol	ppm= Partes por millón
E-Se⁻= Selenato	PV= Peso vivo
E-Se-S-G= Acido selenénico	RL= Radicales libres
E-Se-S-G= Selenosulfuro	RIA= Radioinmunoanálisis
FSH= Hormona folículo estimulante	SAGARPA= Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
FDN= Fibra detergente neutro	S= Azufre
FDA= Fibra detergente ácida	Se= Selenio
GnRH= Hormona liberadora de gonadotropinas	Sin Se= Sin Selenio
GSH- Px= Glutación peroxidasa	SeMet = Selenometionina
I= Irrigaciones	Se-O= Selenio orgánico, en forma de selenometionina
H₂O₂= Peróxido de hidrógeno	SeCys= Selenocisteina
LH= Hormona luteínizante	SAS= Stastical analysis system
Met= Metionina	SOD= Superóxido dismutasa
mm= Milímetros	

MEJORAMIENTO DEL FUNCIONAMIENTO OVÁRICO EN CABRAS, MEDIANTE EL SUMINISTRO DE SELENIO ORGÁNICO

I. INTRODUCCIÓN

La cabra se ha constituido como una de las especies domésticas más importantes para el hombre, como fuente de carne y leche (Arbiza, 1986). Según las últimas estimaciones de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA, 2008), en México hay una población de 8, 870, 312 de cabras; de ellos, el 87% se ubica en el área rural, en regiones áridas y semiáridas, Los estados de mayor importancia en cantidad de caprinos incluyen: Oaxaca, Coahuila, San Luis Potosí, Puebla y Nuevo León, los cuales, en conjunto contribuyen con 47% del inventario nacional. La región norte-centro aporta, aproximadamente 45% de la producción nacional de leche de cabra (DGEA, 1989). En producción caprina, el Estado de México ocupa el lugar 14 dentro de la República Mexicana.

Los caprinos representan un importante factor de ingreso económico para numerosas familias campesinas de bajos recursos, es una actividad caracterizada por emplear mano de obra familiar y desarrollarse de forma extensiva con nivel tecnológico bajo. A pesar de ello, la mayoría de los productores la consideran como redituable a corto plazo, por la alta prolificidad que presentan las cabras y alta demanda de la carne de cabrito en los mercados regionales y nacionales (Johan, 2007). Es por eso que de forma constante, se busca mejorar sus parámetros reproductivos, mediante diversos métodos, uno de ellos es utilizar minerales esenciales como el Selenio, en forma de selenometionina; la cual, es una proteína que integra Selenio en su estructura y menos tóxica para la alimentación animal.

El Selenio es un mineral esencial para rumiantes, ayuda a disminuir problemas reproductivos: retención placentaria, mastitis, metritis, aborto, crías débiles (Cerri *et al.*, 2008); sin embargo, se desconoce el efecto del Selenio sobre la función ovárica y el ciclo reproductivo de la cabra. Por lo anterior, es pertinente realizar estudios sobre el efecto del Selenio sobre la actividad ovárica en cabras y

determinar su influencia sobre la concentración de Progesterona y Estradiol. En esta investigación se aplicó Selenio en una forma de baja toxicidad, como lo es la selenometionina a cabras con manejo previo para sincronizar estros.

El suministro de Se-O puede beneficiar la función ovárica en términos de folículos y cuerpos lúteos. Con ello, garantizar secreción de Progesterona y baja secreción de Estradiol, promoviendo un incremento en la tasa reproductiva.

II. JUSTIFICACIÓN

El Selenio es un elemento esencial para los seres vivos, este forma parte de procesos metabólicos indispensables para el desarrollo normal del cerebro, el suministro de éste previene la enfermedad del músculo blanco, que provoca la muerte en rumiantes además tiene influencia en la reproducción, ya que ayuda a reducir problemas como, retención placentaria, mastitis, metritis, abortos, entre otros.

El Selenio juega un papel clave en la prevención de la oxidación celular, actualmente en humanos, se encuentra en auge la investigación sobre el efecto del Selenio para contrarrestar enfermedades como: cáncer, hipotiroidismo y complicaciones cardiovasculares. En animales, los estudios se refieren al efecto del Selenio en el peso de crías de corderos al destete (López-Gutiérrez *et al.* 2012), sobre sus efectos tóxicos (Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2004) y el efecto sobre retención placentaria y otras patologías reproductivas (Underwood, 1999) que afectan la producción; sin embargo, el modo de acción por el cual este elemento afecta la reproducción en caprinos, aún no se han entendido completamente. No obstante, la deficiencia de Selenio en cabras como en otros animales se refleja en la presencia de patologías como la enfermedad del músculo liso y en alteraciones de parámetros reproductivos (López *et al.*, 1997), Las deficiencias de Selenio se han detectado en diferentes sistemas de alimentación, cuando la concentración del elemento se encuentra por debajo de 0.1 ppm (Cruz *et al.*, 2011), por lo tanto es necesario mantener un nivel mínimo de selenio a disposición. Este mineral puede aplicarse en diferentes formas como: Selenometionina, selenocisteína, selenito y selenato de sodio (Yue *et al.*, 2009), de ellos, la selenometionina tiene una alta biodisponibilidad siendo aprovechable para los rumiantes como las cabras. La selenometionina se absorbe con facilidad y es inmediatamente metabolizada (Yue *et al.*, 2009). Por lo anterior, se consideró pertinente realizar este estudio sobre el efecto del Selenio en la actividad ovárica con la cuantificación de: folículos, cuerpos lúteos, concentraciones sanguíneas de estradiol y progesterona y observación de cortes histológicos de ovario.

OBJETIVOS

3.1 Objetivo general:

- ❖ Determinar si el suministro de Se-O, en forma de selenometionina, mejora el funcionamiento ovárico en cabras.

3.2 Objetivo particulares:

- ❖ Conocer si el suministro de Se-O, tiene efecto en el número y tamaño de folículos y cuerpos lúteos, así como el tiempo de respuesta.
- ❖ Determinar concentración sérica de progesterona y estradiol como respuesta inmediata o tardía a Se-O.
- ❖ Observar características histológicas de estructuras ováricas, como respuesta a Se-O.

IV. HIPÓTESIS

4.1. Hipótesis general:

- ❖ La aplicación de Se-O en forma de selenometionina mejora el funcionamiento ovárico en cabras.

4.2 Hipótesis particulares:

- ❖ La aplicación de Se-O mejora el número y tamaño de folículos ováricos.
- ❖ La concentración sérica de progesterona y estradiol es afectada por la aplicación de Se-O.
- ❖ Las características histológicas de estructuras ováricas se alteran por aplicación de Se-O.

V. REVISIÓN DE LITERATURA

5.1. Generalidades de la Cabra

Las cabras son animales rústicos, que se adaptan a cualquier tipo de ambiente. (Aisen, 2004; Johan, 2007). La cabra doméstica (*Capra hircus*), se encuentra entre los primeros animales que fueron domesticados, en la actualidad es una importante fuente de proteína animal para los humanos además productos como piel, pelo (Aisen, 2004; Johan, 2007), y leche son aprovechados (Olhagaray y Espinoza, 2007).

La importancia de la cabra no solo radica en su rusticidad ni en la calidad de la leche y carne que aporta para consumo humano, también lo es por su prolificidad, y recursos económicos que genera para los ganaderos que garantiza la obtención de 1.7 a 2 cabritos por año.

El aparato reproductor de la cabra, está constituido por: riñón, uretra, vejiga, ovario, cuerpo uterino, cuerno uterino, cérvix, vagina, uretra, vestíbulo, clítoris, vulva y recto (Dyce, 2010). Los ovarios están en cavidad abdominal, suspendidos en la región sublumbar por la porción anterior del ligamento ancho del útero (Delgadillo, 2005). Folículos y cuerpos lúteos en diferentes estadios de desarrollo se localizan en esta estructura (Hills, 2004; Leung *et al.*, 2004; Fig. 1). Los folículos son los encargados de albergar y proteger a las células germinales (óvulos) y de la secreción hormonal (Adashi *et al.*, 1981; Admed *et al.*, 1986). Mientras que la función del cuerpo lúteo es la secreción hormonal.

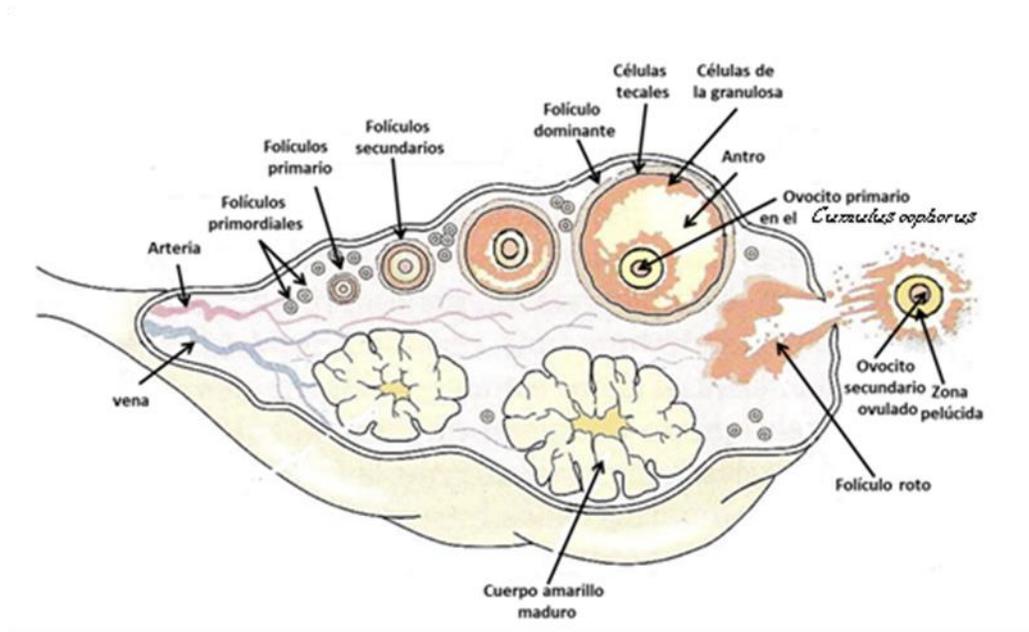


Figura 1. Esquema del ovario (Hills, 2004).

5.2. Estructuras ováricas

5.2.1 Folículos

Los folículos están estrechamente rodeados por células de estroma ovárico, ramas vasculares y nerviosas del sistema nervioso autónomo (Leung *et al.*, 2004). Contienen en su interior óvulos que influenciados por hormonas gonadotropicas (FSH y LH) crecen, maduran y posteriormente, son expulsados (ovulación) hacia el infundíbulo. Folículos maduros secretan estrógenos que son responsables de la conducta sexual. Dependiendo de la secreción hormonal, morfología, tipo y número de células que lo integran, se han clasificado en folículos primordiales, primarios, secundarios, preantrales, antrales, atrésicos, estrogénicos y no estrogénicos. Independiente a la clasificación, el desarrollo de folículos primordiales hasta maduros, se conoce como foliculogénesis (Fig. 2).

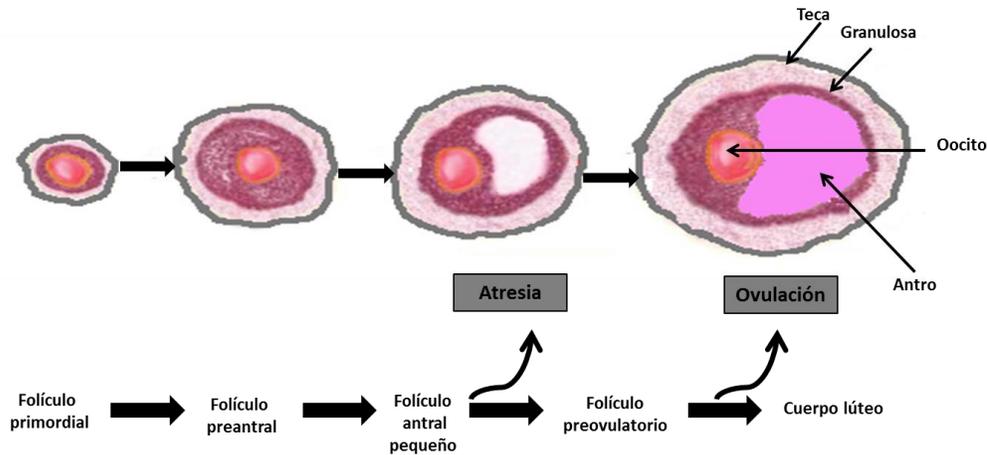


Figura 2. Foliculogénesis (Ganong 2000).

5.2.2. Estructura folicular

Folículos pequeños en estadios tempranos de desarrollo se denominan primordiales y son abundantes respecto a la población folicular; en su interior, se encuentra el oocito diploide detenido en profase I, de la primera división meiótica, rodeado por una capa plana de células de pregranulosa (Hirshfield, 1991; Lintern-Moore *et al.*, 1974).

Con el desarrollo folicular aparece el folículo primario, a nivel del oocito; esta etapa, se caracteriza por la presencia de zona pelúcida y la existencia de células cuboides que la rodean (Wassarman *et al.*, 1996). La transformación de folículo primordial a primario y su crecimiento exponencial en diámetro y células de la granulosa, está supeditada a que el oocito haya alcanzado un diámetro mínimo de 20 μm .

En el folículo secundario, tanto el crecimiento del oocito como del folículo ocurren coordinadamente y se considera como etapa de folículo secundario cuando el oocito alcanza un máximo de 80 μm de diámetro; la vesícula germinal, de 26-27 μm y el folículo de 110-120 μm . De aquí en adelante, el oocito no crece más y el aumento del diámetro folicular depende del crecimiento y proliferación de

las células foliculares y de la aparición del antro, fase en la que el folículo recibe el nombre de folículo terciario o de Graff.

El origen de las células foliculares es diferente en tiempo y espacio. Las células de la teca interna se forman hacia el final del estadio del folículo primordial, mientras que las de la teca externa aparecen a medida que el folículo crece y comprime el estroma circundante, coincidiendo con la etapa de folículo secundario (Erickson *et al.*, 1985). Con la aparición de la teca se adquiere la vascularización del folículo; así, estas células tendrán acceso a las gonadotropinas. Por el contrario, las células de la granulosa no poseen irrigación y sólo acceden a ésta después de la ovulación.

Luego de la aparición del antro folicular, las células de la granulosa se comienzan a diferenciar funcionalmente y, de acuerdo a esto, se pueden encontrar: a) células cercanas a la membrana basal, denominadas murales, que tienen la mayor capacidad de síntesis de esteroides y el mayor número de receptores tempranos para LH (Zoller y Weisz, 1979), b) células que dan hacia el antro y que reciben el nombre de antrales y c) células del *cumulus oophorus* que rodean al oocito y lo acompañan después de la ovulación, formando la corona radiada. Las células del *cumulus* tienen alta capacidad de división, baja expresión de receptores de LH y carecen de actividad de la enzima aromatasa, por lo que se cree que son células nodrizas para el oocito, más que una fuente de estrógenos para el folículo (Lawrence *et al.*, 1980).

5.2.3 Cuerpo lúteo o cuerpo amarillo

El cuerpo lúteo es una estructura glandular y transitoria que se desarrolla a partir de residuos foliculares excretados por las células de la granulosa y de la teca después de la ovulación (Gordon *et al.*, 2000); la cual, llega a ocurrir en promedio 30 h después del pico preovulatorio de LH, hormona que provoca cambios en las paredes del folículo, que conducen a su ruptura (Karsch, 1992),

quedando un espacio folicular invadido por fibroblastos, células endoteliales, células de la teca interna y células de la granulosa; las cuales, darán origen a las células grandes y pequeñas del cuerpo lúteo (Wiltbank y Niswender, 1992).

El cuerpo lúteo tiene la función primordial de secreción de la hormona progesterona, la cual se requiere para el mantenimiento de la gestación en mamíferos. La hormona luteinizante (LH) de la pituitaria anterior, es importante para el desarrollo normal y función del cuerpo lúteo, aunque otras hormonas también contribuyen en su mantenimiento como la hormona del crecimiento, prolactina y estradiol (Gordon *et al.*, 2000).

Al proceso de formación del cuerpo lúteo se le conoce como luteinización, que consiste en cambios morfológicos, endocrinos y enzimáticos que ocurren en el folículo preovulatorio hasta que este se transforma en cuerpo lúteo funcional (Smith *et al.*, 1994; Gordon *et al.*, 2000; Fig. 3). En algunos casos, la luteinización comienza antes de la ovulación en respuesta a la elevación preovulatoria de las gonadotropinas LH y FSH (hormonas luteinizante y folículo estimulante), siendo LH la hormona más importante para la ruptura del folículo y su posterior transformación en una estructura lútea (Niswender *et al.*, 1994), con duración determinada dependiendo de la especie.

A partir del día 13 del ciclo, en la oveja y 16, en vaca y cabra, con el aumento de receptores a oxitocina en el endometrio, se determina el inicio de la luteólisis (Silvia *et al.*, 1991); cuando los receptores aparecen demasiado temprano, la regresión del cuerpo lúteo se adelanta, como ocurre en hembras que desarrollan cuerpo lúteos de vida media corta, frecuente en la primera ovulación de la época reproductiva, en el primer ciclo después del posparto y en la pubertad (Hunter, 1991).

5.3 Ciclo reproductivo de la cabra

La actividad reproductiva de la cabra está influenciada por diferentes factores: raza, presencia del macho, nutrición y principalmente, fotoperiodo (Legan y Karsch 1979). La actividad reproductiva en esta especie, inicia cuando se incrementa el escotoperiodo, presentando como ventaja, que los nacimientos ocurran en la época de mayor disponibilidad de forraje (Lindsay, 1991). El fotoperiodo controla la secreción de melatonina, liberada durante las horas de oscuridad, con un patrón inversamente proporcional a la cantidad de horas luz por día (Chemineau *et al.*, 1992).

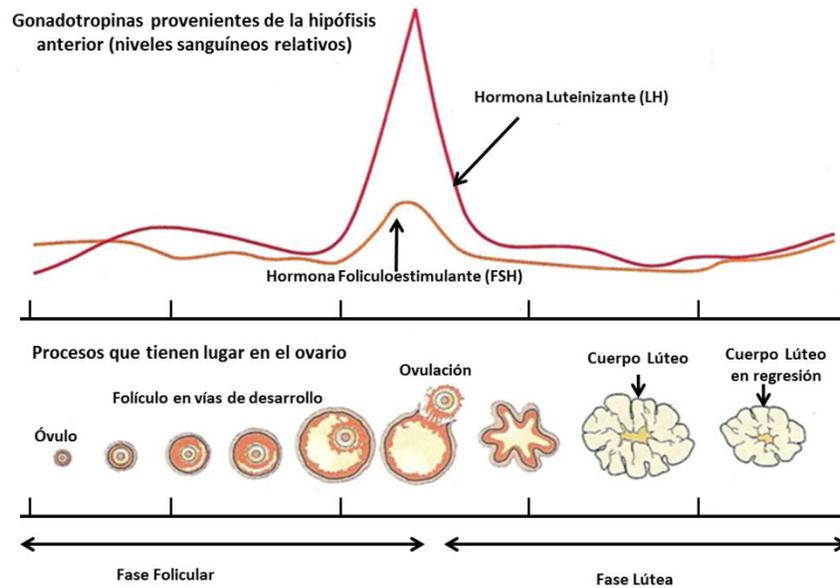


Figura 3. Desarrollo del cuerpo lúteo y su relación hormonal (Gordon *et al.*, 2000).

5.4 Ciclo estral de la cabra

El tiempo que transcurre entre un celo y otro es denominado ciclo estral y se refiere a los cambios fisiológicos y conductuales que suceden entre el inicio y final de un celo y el inicio y final de otro consecutivo (Aisen, 2004; Johan, 2007; de la

Rosa, 2011). El ciclo estral consta de dos etapas, dependiendo de las estructuras ováricas predominantes: fase folicular y fase lútea.

La fase folicular inicia con reclutamiento de una población folicular abundante y finaliza con la ovulación de uno o dos folículos, durante esta fase ocurre la maduración folicular, por lo que el esteroide gonadal dominante es estradiol. La fase lútea se refiere a la etapa del ciclo en la cual se forma y tiene mayor funcionalidad el cuerpo lúteo y la hormona dominante es progesterona.

Estas dos etapas, a su vez, pueden ser subdivididas en cuatro (**Fase folicular:** Proestro y Estro **Fase lútea:** Metaestro y Diestro; Fig. 4), que varían en tiempo de duración dependiendo de la especie (De la Rosa, 2011). En la cabra, el ciclo estral es en promedio, de 21 días, el estro dura 24 horas y la ovulación ocurre de 30 a 36 horas después de iniciado el estro (Delgadillo, 2005) y del pico preovulatorio de LH (Hormona Luteínica), es el momento en que las células de granulosa se luteinizan, formando el cuerpo lúteo, el cual, secreta gran cantidad de progesterona.

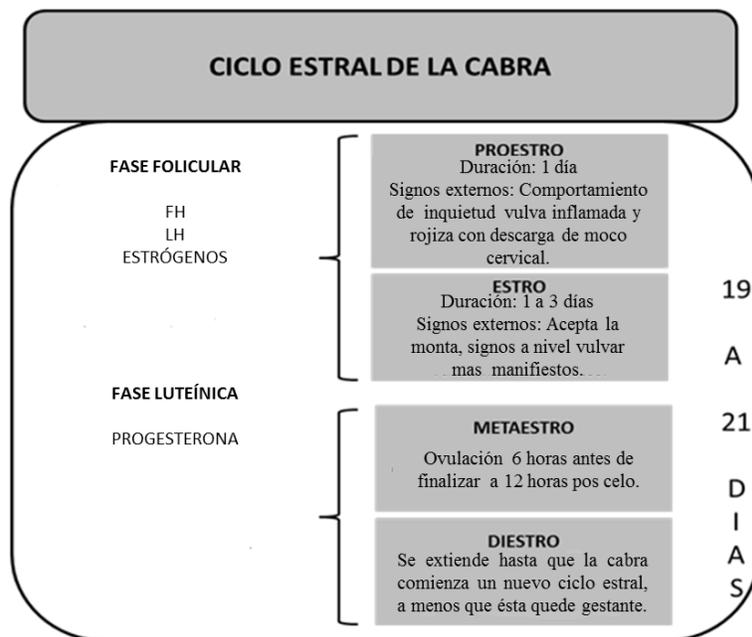


Figura 4. Fases del ciclo estral de la cabra (de la Rosa, 2011).

5.5 Funciones de la progesterona y estradiol

La progesterona y el estradiol, al igual que otros esteroides, son sintetizados a partir del colesterol (Fig. 5); para el caso del estradiol, se requiere la intervención de la enzima aromatasa. El estradiol es el esteroide comúnmente encontrado en los folículos; mientras que, la progesterona, lo es en el cuerpo lúteo. Para la síntesis de estos esteroides, se requiere que la molécula de colesterol sea captada mediante diferente tipo de receptores localizados en la membrana celular (Miranda, 2007).

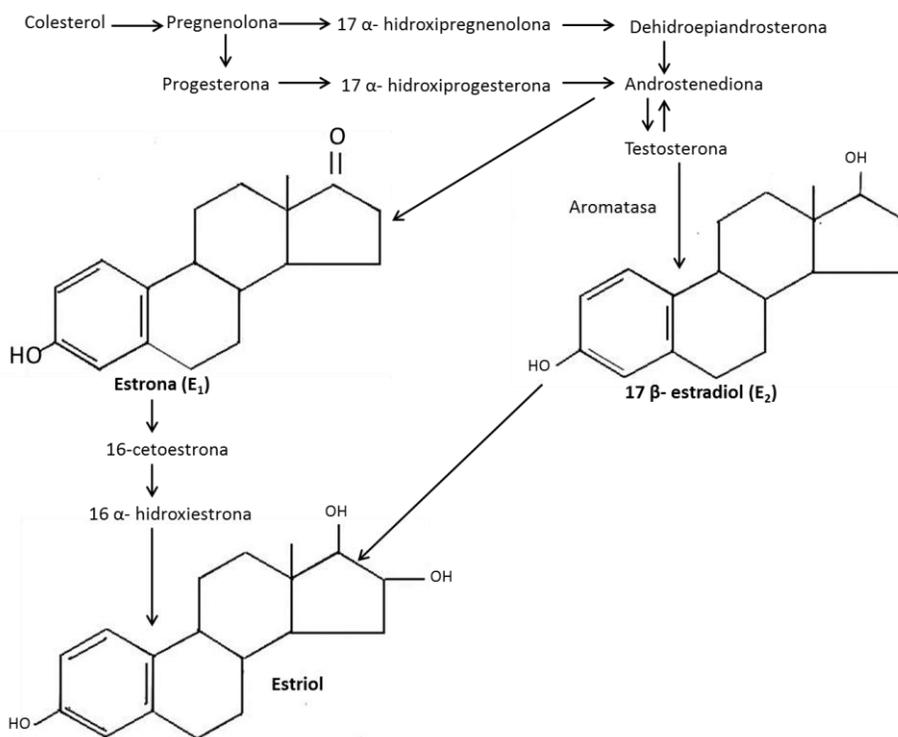


Figura 5 Biosíntesis de estradiol (Bohinski, 2000).

La progesterona también se encuentra en placenta y, en pequeñas cantidades, en folículo. Los principales órganos blancos de la progesterona son: útero, glándulas mamarias y cerebro. Esta hormona produce cambios histológicos cíclicos en cérvix y vagina (Ganong, 2004). En glándula mamaria, ésta estimula el desarrollo de lóbulos, alvéolos, induce diferenciación de tejido ductal preparado

por el estrógeno y apoya la función secretora de la glándula mamaria durante la lactancia. Los efectos de retroalimentación de la progesterona son complejos y se ejercen tanto a nivel hipotalámico como hipofisario. Las dosis altas de progesterona inhiben la secreción de LH y potencian el efecto inhibitor de los estrógenos, lo cual previene la ovulación, su acción termogénica probablemente sea la causante del incremento en temperatura corporal basal antes de la ovulación (Ganong, 2004).

El estradiol ó 17β -estradiol es otro esteroide, se secreta principalmente en células de granulosa foliculares, cuerpo amarillo y placenta (Ganong, 2004). Su biosíntesis depende de la enzima aromatasas localizada en células de la granulosa y sintetiza estradiol a partir de testosterona, secretada en células de la teca.

5.6 Propiedades del Selenio

El Selenio está considerado como un no metal que pertenece a la familia VI A de la tabla periódica de los elementos (Chang, 2010). En su forma pura es un mineral tóxico cuando se aplican cantidades mayores a 3 ppm y requiere suministrarse a menores niveles, formando otros compuestos, unidos o no, a aminoácidos.

En México, la deficiencia de Selenio, en los suelos, es un problema endémico, y se puede encontrar dicha deficiencia desde el altiplano hasta el sur de México; por tanto, los alimentos que se producen en estas regiones son pobres en Selenio, ocasionando concentraciones inadecuadas para mantener las funciones fisiológicas de los animales que las consumen (López-Gutiérrez *et al.*, 2012).

Niveles adecuados de este elemento son necesarios en la dieta para mantener la salud y reproducción, tanto en hembras como en machos; por lo anterior, es un mineral esencial para aves y animales para consumo humano (Church *et al.*, 2007). Las formas de suministrar Selenio incluyen: a través de mezclas minerales, soluciones inyectables y orales de selenito de sodio, bolos intrarruminales, en

agua y como suplemento mineral a libre acceso (Pérez, 2007) y, recientemente, en forma de Selenio orgánico: Selenio unido a aminoácidos como metionina o cisteína, encontradas de forma abundante en algunas levaduras (FDA, 2005).

Las presentaciones de Selenio permitidas para el consumo de ganado incluyen selenito de sodio, selenato de sodio y levaduras con Selenio (FDA, 2005). A partir del 2005, la FDA permite la utilización de levadura enriquecida con Selenio en la alimentación de pollos, cerdos, guajolotes, borregos, bovinos y patos a concentración no mayor a 3 ppm. En cabras, se reporta intoxicación si se excede de 5 ppm (NRC, 2007). Estas cantidades pueden modificarse con factores sinérgicos o antagónicos, presentes en la ración alimenticia: grasas, proteínas, aminoácidos, vitamina E, azufre, cobre, arsénico y cadmio.

El Selenio es componente esencial para diversos procesos fisiológicos (Ceballos, 1999), ya que disminuye radicales libres de oxígeno liberados durante los procesos metabólicos, tales como peróxidos de hidrógeno e hidroperóxidos lipídicos, altamente dañinos (Rotruck *et al.*, 1973). Junto con la vitamina E, el Selenio tiene función antioxidante y forma parte de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px) implicada en la desintoxicación. Por otra parte, el Selenio es componente de las selenoproteínas y está involucrado en la función inmune (Ramírez- Bribiesca *et al.*, 2005).

5.7 Selenio y radicales libres

Un radical libre (RL) es una entidad química que contiene uno o más electrones desapareados, los cuales, modifican la reactividad química de un átomo o molécula y los hace generalmente, más reactivo que su no radical correspondiente. Sin embargo, la reactividad química de los diferentes RL es muy variable y pueden ser generados dentro de la célula como intermediarios de procesos bioquímicos, tales como aquellos que involucran enzimas redox y transferencia de electrones. La mayoría de los RL son derivados del oxígeno: el radical superóxido (O_2^-), hidroxilo (OH^-) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que

aunque no es un RL, está estrechamente relacionado, por ser el principal precursor del radical hidroxilo (Pardee, 1989).

Los RL cumplen una función importante en procesos homeostáticos del organismo animal, ya que sirven como intermediarios en reacciones oxidación-reducción, indispensables para la vida (Chow, 1979; Halliwell, 1996; Larkins, 1999). Aunque en exceso, pueden tener efectos nocivos ya que son altamente tóxicos y provocan daños a nivel celular y tisular (Toyokuni, 1999). Con el fin de controlar este efecto, los organismos aeróbicos han desarrollado mecanismos de defensa contra el ataque de estos radicales, siendo una primera línea de defensa que actúa contra especies reactivas de oxígeno e incluye a: superóxido dismutasa (SOD), catalasa y GSH-Px, ambas localizadas en el citoplasma celular (Rotruck *et al.*, 1973). Otra segunda línea localizada a nivel de membrana celular, está representada por compuestos que minimizan la peroxidación de las membranas e incluye a la vitamina E y la GSH-Px (Hubel *et al.*, 1989).

5.8 Influencia del Selenio en la glutatión peroxidasa (GSH-Px)

El Selenio es parte integral de la enzima GSH-Px y está presente en la partentra y externa de la célula, para poder así, reducir el daño celular (Behne y Kyriakopoulos, 2001). La GSH-Px es un tripéptido derivado de aminoácidos que contiene un grupo sulfhidrilo (Fig. 6), con varias funciones importantes. Por ejemplo, protegen a los eritrocitos del deterioro oxidativo, actuando como amortiguador de los grupos sulfhidrilo (Stryer, 2002).

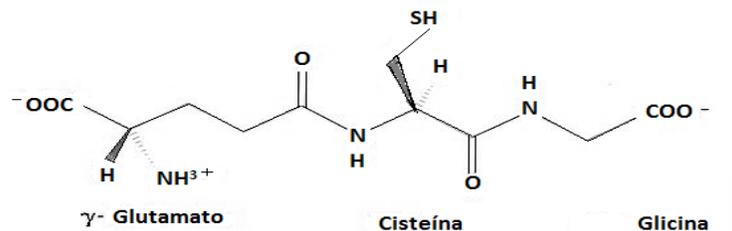


Figura 6. Estructura de la molécula de la glutatión (Stryer, 2002).

La GSH-Px desempeña un papel clave en la detoxificación celular por reaccionar con peróxido de hidrógeno y peróxidos orgánicos, subproductos nocivos de la vida aeróbica. La GSH-Px se caracteriza por tener un aminoácido modificado que contiene un átomo de Selenio. Concretamente, su centro activo contiene al análogo con Selenio en la cisteína, sitio en que el Selenio sustituye al azufre. En el tejido corporal de los mamíferos, se conocen al menos, cuatro formas de GSH-Px que contienen selenocisteína como sitio activo y la más conocida es GPX-1 (Arthur, 2000). La actividad de esta isoenzima se ha estudiado en sangre de animales domésticos: ovejas, vacas y caballos, actividad que puede, con ciertas reservas, tomarse como indicativo de los niveles de Selenio en sangre del organismo animal (Gudmundsdóttir *et al.*, 2008).

5.9 Selenio y su relación con vitamina E

El Selenio se encuentra estrechamente relacionado con la vitamina E y ambos funcionan como antioxidantes que regulan la función inmune de los animales domésticos (Finch y Turner, 1996). Se ha puesto gran atención en la relación de la vitamina E y el Selenio en la protección de leucocitos y macrófagos durante la fagocitosis, mecanismo inmunológico por el cual los mamíferos combaten bacterias invasoras (Baker y Cohen, 1983; Baboir, 1984).

El aumento de concentraciones plasmáticas de Selenio y vitamina E ayuda a disminuir el daño celular, reducir la retención placentaria, evitar metritis y mastitis, optimizar la fertilidad, mejorar la función de neutrófilos, mejorar el sistema antioxidante celular y aumentar la resistencia a enfermedades (Cerri, 2008).

5.10 Tipos de Selenio

En la actualidad se conocen diferentes fuentes de Selenio que pueden ser suministrados a los animales como: a) fuente inorgánica, encontrada en su forma química como selenito de sodio (Na_2SeO_3) y selenato de sodio (Na_2SeO_4) y b)

fuerza orgánica, que se encuentra como selenometionina, cuyo origen es el cultivo de levaduras, esta forma de Selenio es mejor conocida como seleninato. De las dos formas inorgánicas, el selenato es más utilizado, ya que el selenito se transforma rápido a Selenio, haciéndolo menos disponible y alcanzando a formar compuestos insolubles con otros metales.

Por otro lado, el Selenio en su forma orgánica tiene mejor biodisponibilidad y baja toxicidad cuando se utiliza como suplementación en las especies domésticas (McDowell, 1997; Wolfram, 1999). La selenometionina es un aminoácido análogo a la metionina, que contiene Selenio sustituyendo al átomo original de azufre (Fig. 7). La forma isomérica L es la fuente natural común en alimentos ricos en Selenio. Este compuesto no puede ser sintetizado por animales superiores, que lo obtienen a través de la dieta, principalmente de plantas que lo incorporan a sus proteínas, modificando a la metionina de forma inespecífica (Valdiglesias *et al.*, 2008).

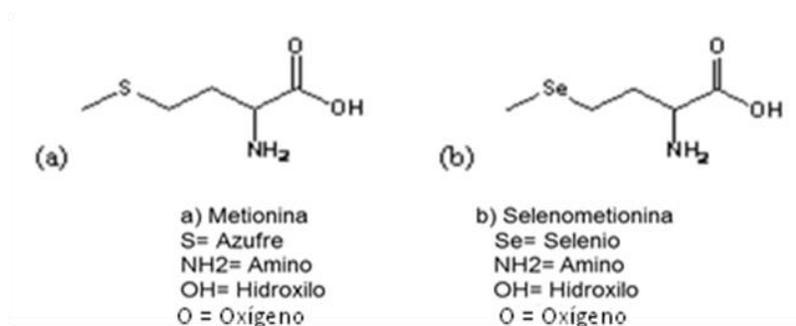


Figura 7. (a) Estructura química de metionina y (b) selenometionina (Valdiglesias *et al.*, 2008).

La selenometionina se absorbe con facilidad y es inmediatamente metabolizada, o bien, incorporada a la estructura de las proteínas, siendo almacenada principalmente en el páncreas (Suzuki *et al.*, 2006) y dejándola disponible en el momento en que el organismo la requiera.

El reemplazamiento de metionina por selenometionina no produce, como norma general, alteraciones estructurales en la proteína que la porta, pero puede influir en la actividad de la enzima, si la selenometionina sustituye a la metionina, en una posición próxima al sitio activo. Como el grupo Se-CH₃ de la selenometionina es más hidrofóbico que el grupo S-CH₃ de la metionina, el acceso al sustrato puede verse afectado, alterando los parámetros cinéticos de la proteína (Valdiglesias *et al.*, 2008) y su solubilidad.

5.11 La reproducción y el Selenio

La interacción nutrición/reproducción ha sido abordada por diversos estudios, demostrando que el manejo adecuado de ambos, repercute en mejora de parámetros productivos y reproductivos (Madibela *et al.*, 2002; Griffiths *et al.*, 2007). En el caso específico de dietas combinadas con minerales como Selenio, mejora la producción de huevo y la incubación en gallinas ponedoras; en vacas, reduce tanto la mortalidad embrionaria como la retención placentaria (Trinder *et al.*, 1973); en borregas, solo hay reportes en torno a reducción de retención placentaria (Maiorino *et al.*, 1999); en cerdas, reduce la presentación de metritis agaláctica. Por otro lado, en animales de laboratorio como ratas gestantes, con bajas concentraciones de Selenio se presentan nacimientos de crías con poco pelo y al llegar a la madurez no se reproducen (Underwood, 1999). En verracos con deficiencia de Selenio, se reduce el desarrollo testicular y se presentan cambios degenerativos en el epidídimo (Underwood, 1999). Los problemas de la deficiencia de Selenio pueden solucionarse si se suplementa con 0.1 ppm de este elemento, con dosis variadas dependiendo de la especie animal, la edad, y etapa reproductiva (McCoy-Kim y Weswig, 1969). En cabras y borregas, se ha reportado que, la administración de suplementos con este mineral mejora la tasa de concepción, en el primer servicio (McClure *et al.*, 1986). Mientras que en vacas se ha asociado con aumento sanguíneo y tisular de la actividad de la glutatión peroxidasa. McClure *et al.* (1986), observaron que inyecciones de Selenio a vacas

con tres semanas preparto disminuyó la incidencia de retención placentaria y el paso del mismo al feto.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Localización

El presente estudio se realizó de abril a julio de 2013, en la localidad El Temblor, Tlatlaya, Estado de México, a 18° 40' 37" de latitud norte y 100° 26' 47" de latitud oeste. Limita al norte con Amatepec, al este con Sultepec, al oeste y al sur con el estado de Guerrero. Presenta clima clasificado como Aw (w) (i) g; conocido como clima tropical subhúmedo, con lluvias en verano y temperatura mínima de 18°C, máxima de 33°C y temperatura media de 20° C.

6.2 Manejo de los animales antes y durante el experimento

Se utilizaron 18 cabras de raza no definida, con un peso vivo de 32 ± 2 kg, 24 meses de edad y condición corporal de dos a tres, en una escala de uno a cinco (Russel *et al.*, 1969). Antes de iniciar el experimento, los animales se alimentaban con 800 g de mazorca molida, ensilado de maíz una vez por día y 3 h de pastoreo matutino por día. Para homogenizar la condición corporal de los animales; tres semanas antes de iniciar el tratamiento, la alimentación fue a base de alimento comercial con 14 % de proteína cruda, además de otros componentes (Anexo 1), según análisis bromatológico realizado en el laboratorio de nutrición animal del Colegio de Postgraduados.

Con la finalidad que los animales estuvieran en condiciones de salud controlada se desparasitaron con 1ml/kg de peso vivo de Ivermectina, solución inyectable, a concentración de 1.0 mg por 100 ml según indicaciones del fabricante (Loeffler) y, dadas las condiciones de peso corporal, se vitaminaron con complejo B (Bio Zoo), se evitó la aplicación de vitaminas liposolubles, para impedir la interferencia de la vitamina E con los resultados del experimento, dado el sinergismo que presenta con el Selenio.

Para verificar si el Selenio retenido en el organismo animal resultó de la aplicación de Se-O y no del que la dieta pudiera aportar, se determinó el Selenio contenido en el alimento mediante microscopía electrónica de barrido (Joel-

Electron Microscopy, (Modelo JSM6390), en el laboratorio de Microscopía electrónica del Colegio de Posgraduados, *Campus* Montecillo observando al microscopio 1 g de mazorca molida y 1 g de silo de maíz, que correspondió a la alimentación ofrecida al animal durante el periodo de experimentación. No se encontró Selenio en el ensilado de maíz y mazorca molida (Anexo 2).

Otra forma de controlar el selenio presente en el organismo animal fue mediante la evaluación de la cantidad de Selenio retenido por el organismo, para ello, se evaluó el Selenio suministrado y el que se secretó en orina y heces (Anexo 3), las cuales se colectaron en todos los animales; una vez por semana durante cuatro semanas, comenzando la colecta al inicio del tratamiento y finalizando un día antes de la segunda ovariectomía (la primera ovariectomía se realizó en día 13 después de iniciado el tratamiento). Para la colecta, se utilizaron bolsas metabólicas colocadas en la región pélvica de las cabras; posteriormente, las muestras se retiraron de la bolsa metabólica para colocarlas en viales plásticos y congelarlas a -20°C, hasta su análisis.

La valoración de Selenio en orina y heces se realizó mediante Absorción Atómica (Anexo 4) en el laboratorio de Química de Suelos-Edafología del Colegio de Posgraduados, *Campus* Montecillo, utilizando el equipo (Atomic Absorption Spectrometer Perkin Elmer, Modelo AS800).

6.3 Sincronización de estros

Una vez que los animales adquirieron la condición corporal dos o tres y antes de iniciar el tratamiento de Se-O (selenometionina), éstos fueron manejados con un protocolo estandarizado de sincronización de estros, utilizando un dispositivo intravaginal (CIDR ®; Pfizer) que contiene 0.3 g de progesterona, este dispositivo fue colocado intravaginalmente por 10 días, tiempo en el que se realizó una revisión diaria a las cabras para confirmar la permanencia del dispositivo. El día de retiro del CIDR se aplicó una dosis de 1 ml de prostanglandina (PGF₂α; "Ciclar"; Zoovet), según indicaciones del laboratorio.

6.4 Tratamientos con selenometionina (Se-O)

Se aplicaron 300 mg de levadura enriquecida con Selenio (Se-O; Sel-plex, amablemente obsequiada por All-tech, México), cuya concentración de Selenio por kilogramo es de 2050 mg. Los animales fueron divididos en dos grupos: nueve cabras para el grupo con tratamiento de Se-O y nueve para el grupo testigo a las cuales no se les aplicó Se-O.

- Grupo A) Se-O, n=9
- Grupo B) Sin Se-O, n=9

Un día antes del retiro del CIDR se aplicó al grupo A, 300 mg de levadura aportando de $0.6 \text{ mg animal}^{-1} \text{ día}^{-1}$ de Selenio (Se-O) , durante 16 días vía oral, éste se diluyó, previamente, en una jeringa con 10 ml de agua y se administró directo en la boca de cada animal, garantizando que recibieran la dosis completa. El grupo B se mantuvo con el mismo manejo que el grupo A; pero, sin suministro de Se-O. A ambos grupos se les extrajo sangre de la vena yugular.

6.5 Concentración sérica de progesterona y estradiol

Con la finalidad de conocer la concentración sérica de progesterona y estradiol como respuesta al suministro de Se-O, se tomaron muestras sanguíneas, obtenidas de la vena yugular: 1) dos días antes y al momento de poner el CIDR; el cual, fue colocado diez días antes de iniciar el tratamiento con Se-O. 2) una vez iniciado el tratamiento con Se-O, lo que coincidió con el retiro del CIDR, las muestras se tomaron cada tercer día durante 25 días. El suero sanguíneo fue obtenido por decantación, después de formado el coagulo sanguíneo y las muestras se congelaron a -20°C hasta la valoración hormonal; la cual, fue realizada mediante radioinmunoanálisis (RIA), en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Departamento de Biología de la Reproducción, Laboratorio de Hormonas Proteicas.

6.6 Respuesta al Se-O en ovarios

Con la finalidad de conocer la respuesta ovárica mediata o tardía en cuanto a número y tamaño de folículos, número de cuerpos lúteos (CL) y características histológicas de los ovarios, en respuesta al Se-O, se realizaron ovariectomías: la primera, a mitad del experimento (día 13 después de iniciado el tratamiento con Se-O), utilizando a tres cabras de cada grupo (tres animales con Se-O y tres sin Se-O), para obtener el ovario que presentaba mayor actividad. La segunda, en los doce animales restantes (seis con Se-O y seis sin Se-O); la cual, se realizó al terminar el periodo de aplicación de Se-O (día 25 después de iniciado el tratamiento con Se-O). Los ovarios obtenidos fueron utilizados para conteo, medición y observación histológica de estructuras ováricas.

Los ovarios se depositaron en solución salina con 0.01% de antibiótico de amplio espectro (Rofloxacina; Bayer), se mantuvieron en hielo, se lavaron y limpiaron retirando el exceso de tejido no ovárico. En ovario se evaluó, largo, ancho y grosor y estructuras ováricas como folículos fueron contados y medidos; mientras que, los cuerpos lúteos sólo se contaron. Las medidas se realizaron con regla milimétrica de 30 cm (Vernier). Para el caso de folículos y en base a su medida, se clasificaron en: pequeños, de 1 a 3 mm; medianos > 3 mm a 6 mm; grandes > 6 mm y < de 10 mm y preovulatorios > 10 mm.

Una vez terminadas las mediciones, los ovarios se colocaron en solución de paraformaldehído al 4%, por 12 h; posteriormente, se lavaron con solución salina, y se colocaron en alcohol al 75 %, para ser incluidos en parafina, realizando cortes histológicos de 5 μ m, los cuales, fueron colocados en portaobjetos y teñidos con Hematoxilina-Eosina observándose al microscopio (compuesto óptica Axiom 3005) con objetivo 10X y 20X.

6.7 Diseño experimental

Para determinar si existe respuesta inmediata o tardía con respecto a la aplicación de Se-O sobre estradiol y progesterona los datos fueron analizados para homogeneidad de varianzas y, debido a la falta de normalidad, fueron transformados en logaritmo base 10; posteriormente, se realizó un ANDEVA bajo un diseño completamente al azar. La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey y las diferencias fueron consideradas con un $\alpha \leq 0.05$.

Los datos fueron evaluados utilizando el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + Se_i + E_j + A_k$$

Dónde:

Y_{ijk} = Variable respuesta

μ = Media muestral

Se_i = Efecto del i-ésimo día de aplicación de Se-O

E_j = Efecto j-ésimo de concentración de E2 (0=Sin, 1=Con)

A_k = Efecto de j-ésimo concentración de P4 (0=Sin, 1=Con)

ϵ_{ijk} = Error Aleatorio, asociado a cada observación, donde $\epsilon_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$

Para saber si existían diferencias entre las categorías de folículos y cuerpos lúteos (CL), se realizó la prueba de distribución de Poisson.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El suministro de Se-O a cabras se reflejó de forma inmediata (día nueve) en la disminución de la población de folículos pequeños ($P \leq 0.05$) y aumento en el número de folículos grandes ($P \leq 0.05$; Fig. 8); mientras que, en su efecto tardío (día 21), se aumentaron tanto la población de folículos pequeños, así como de folículos preovulatorios ($P \leq 0.05$; Fig. 8).

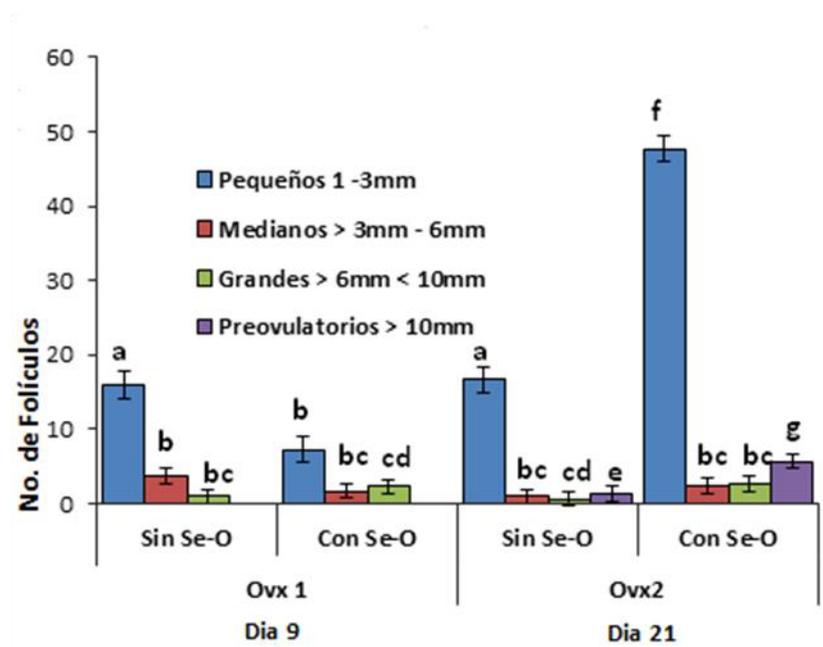


Figura 8. Número y tamaño de folículos encontrados en ovarios de cabras, como efecto inmediato o tardío del suministro de Se-O. Sin Se-O= sin Selenio orgánico, Con Se-O= Tratamiento con Selenio orgánico, Ovx= ovariectomía. (* $P \leq 0.05$).

Existen pocos reportes sobre el efecto que el Se-O tiene sobre el desarrollo folicular; sin embargo Utterback *et al.*, (2005), reportaron que la suplementación a gallinas ponedoras con este tipo de Selenio se refleja en aumento de postura, esto indicaría aumento en el desarrollo de folículos, si se considera que cada folículo/ovocito corresponde a un huevo en la gallina. Además, Abedelahi *et al.*, (2010) reportaron que cultivo de ovarios de ratón en medio enriquecido con Selenio resultó en mayor número de folículos por disminución en sustancias

reactivas a oxígeno. Otro efecto del selenio sobre el folículo es la disminución de toxicidad por radicales libres y productos como el cadmio (Bekheet, 2011) que de forma directa disminuye enzimas que actúan como cofactores de antioxidantes, tal es el caso de GPx y SOD (Nad *et al.*, 2007). Además la disminución o ausencia de Se en ovario es reflejada en presencia del síndrome poli-quístico (PCOS) el cual se acompaña de hiperandrogenismo que es otro resultado de deficiencia de Se (Coskun *et al.*, 2013).

El efecto inmediato (día nueve) y tardío (día 21) del Selenio sobre el número de cuerpos lúteos fue positivo ($p \leq 0.05$; Fig. 9). Para el día nueve se aumentaron en 66% con respecto al testigo; mientras que, para el día 21, el número total aumentó a más del doble (125%). Kamada e Ikumo (1997) afirman que el Se está involucrado en la producción de hormonas esteroides, como la progesterona.

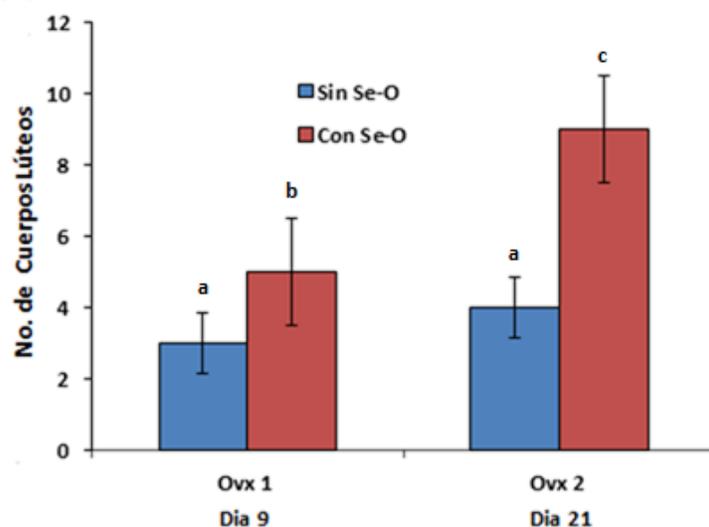


Figura 9. Cuerpos lúteos obtenidos de los ovarios de cabras como respuesta inmediata o tardía al suministro de Se-O. Sin Se-O= sin Selenio orgánico, Con Se-O= Tratamiento con Selenio orgánico, Ovx= ovariectomía (* $P \leq 0.05$).

La observación realizada en cortes histológicos de folículos en diferente estadio de desarrollo, mostró abundante riego sanguíneo, localizado en la capa de células de teca (Fig. 10). Esta abundancia de irrigación sanguínea puede ser la causante de la proliferación de cuerpos lúteos dentro de cada fecha de muestreo. Resultados similares se encontraron por Grazul-Bilska *et al.* (2009), en hijas de borregas tratadas con Selenio, los cuales, coincidieron con aumento en el factor de proliferación de estos folículos y aumento en el número de los mismos. Si se relaciona el papel fundamental que la irrigación sanguínea juega en la entrega de nutrientes a la célula, es decir que el aumento de irrigación que el Selenio propicia en el folículo, favorece su desarrollo. También se observaron estructuras fuertemente irrigadas y cuya identidad es difícil de interpretar, puesto que no muestran signos específicos de luteinización y tampoco integridad en las capas celulares que forman al folículo (Fig. 11). Esto resulta controversial con lo anterior, ya que la irrigación bien puede favorecer el desarrollo folicular pero también alteraciones en estructuras foliculares o lúteas como las aquí encontradas.

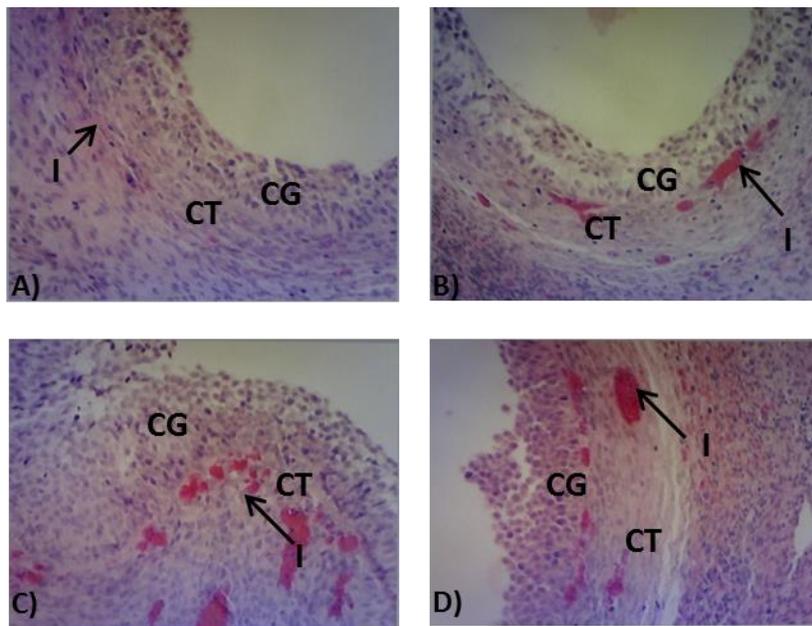


Figura 10. Imágenes de folículos como respuesta al suministro de Se-O en cabras. Imagen A) y B) muestras sin Se-O, imagen, C) y D) con Se-O. I= Irrigación, CT= Células de la teca, CG= Células de la granulosa.

Los resultados mostraron que el tratamiento con Se-O favorece los parámetros evaluados (largo ancho y grosor; Fig. 12), observándose los ovarios más grandes en cabras con Se-O, en comparación a las que no se les suministró Se-O ($P \leq 0.05$), para ambas ovariectomías (muestreo). De las medidas evaluadas, el largo del ovario fue mayor en cabras con Se-O ($P \leq 0.05$), dándole forma almendrada; lo anterior, coincide con lo reportado por Hafez (2002). Cabe señalar que el ovario de los animales sin Se-O también presenta esta forma aunque son más pequeños. Es importante mencionar que el tamaño del ovario se aumentó como efecto tardío al suministro de Se-O ($P \leq 0.05$). El aumento en tamaño de los ovarios de cabras con suministro de Se-O que aquí se observó está relacionado directamente con el número y tamaño de estructuras ováricas que se presentaron.

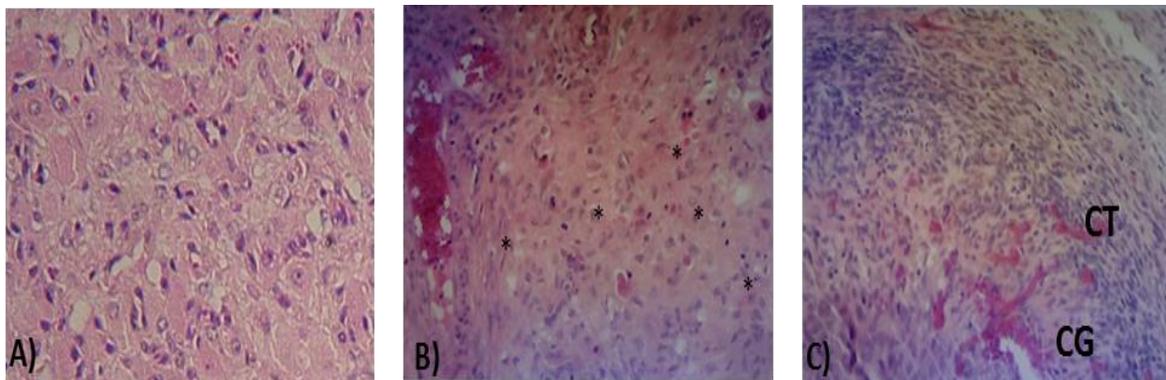


Figura 11. Estructuras ováricas normales y con irrigación abundante como respuesta al suministro de Se-O en cabras. A) cuerpo lúteo normal de cabras sin tratamiento, B) estructura ovárica con signos de células luteícas (*) y zona con irrigación abundante, C) estructura con irrigación abundante, capas de células de la granulosa engrosada y aparente persistencia de la capa de células de teca.

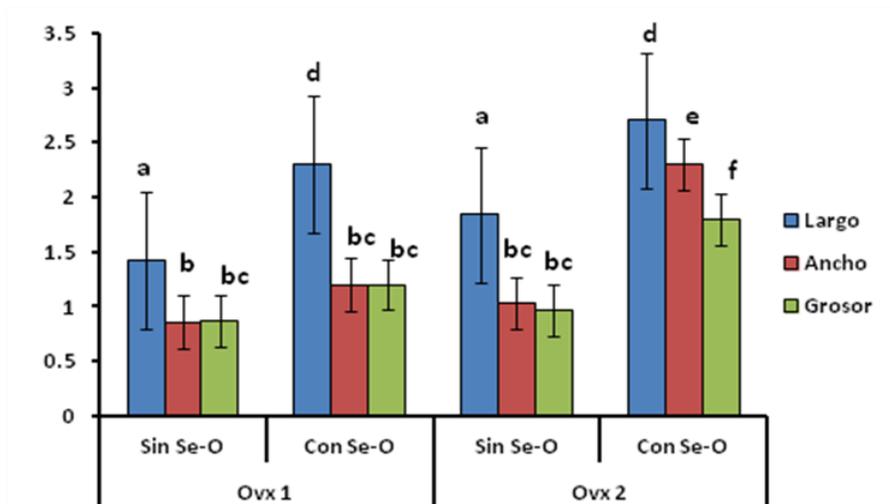


Figura 12. Largo, ancho y grosor de ovarios obtenidos de cabras con y sin Se-O. Sin Se-O= sin Selenio orgánico, Con Se-O= Tratamiento con Selenio orgánico, Ovx= ovariectomía (* $P \leq 0.05$).

Para concentración de estradiol, no se encontró diferencia debida al tratamiento ($P > 0.05$; Fig. 13). No obstante, si la hubo para fecha de muestreo, siendo el día 21 cuando se elevó el estradiol de forma acentuada, coincidente con el número de folículos encontrados. Walters y Schallenberger (1984) mencionan que los folículos preovulatorios son una fuente de aumento en la concentración de estradiol. La concentración de estradiol pudo verse afectada por la dosis administrada de Se-O, que aunque se menciona que su toxicidad es reducida, esta pudiera verse aumentada por acumulo celular y ocasionar alteraciones en la actividad de la aromatasa como se menciona en la investigación realizada con ácido metil selénico que es un componente secundario del Selenio y el cual reduce la síntesis de estradiol (Gao *et al.*, 2012).

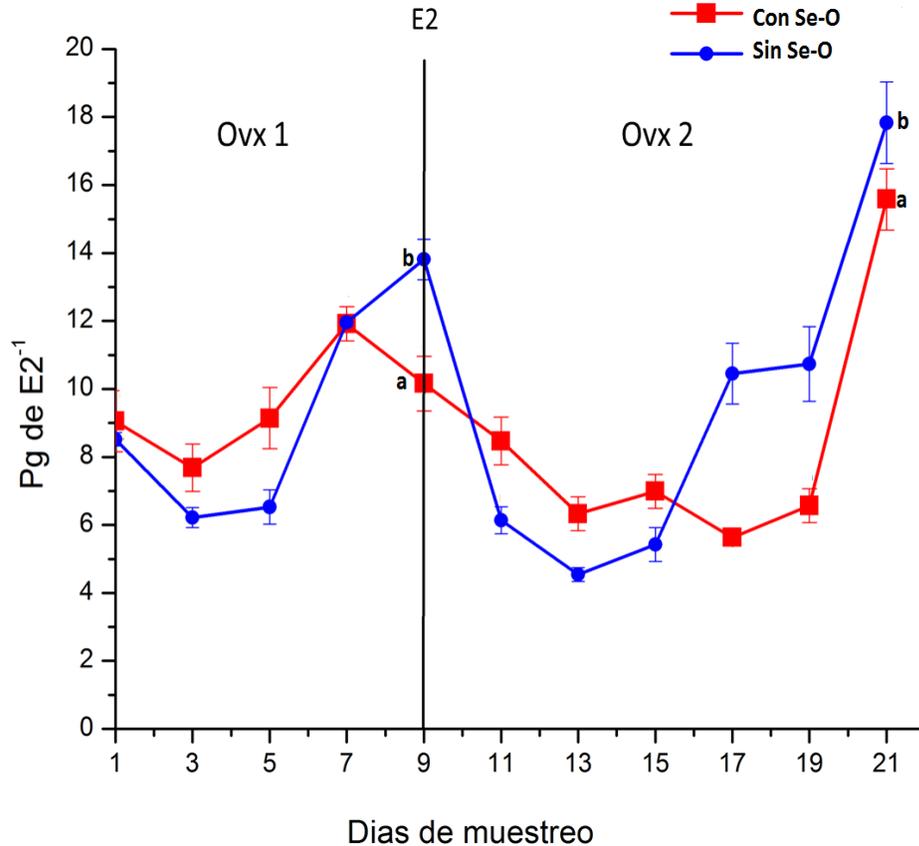


Figura 13. Concentraciones plasmáticas de estradiol, como respuesta al suministro de Se-O, en cabras. Sin Se-O= sin Selenio orgánico, Con Se-O= Tratamiento con Selenio orgánico, Ovx= ovariectomía ($P \leq 0.05$).

En plasma, la concentración promedio de progesterona no se modificó por acción del Se-O ($P > 0.05$; Fig. 14), pero al igual que en la concentración de estradiol, en los días de muestreo, se observaron diferencias, siendo los días siete y once cuando se registraron picos de elevación en la concentración, tanto en cabras con suministro de Se-O como en las que no lo recibieron. Dados los resultados en cantidad de cuerpos lúteos que se encontraron en este estudio, se esperaba que la concentración de esta hormona estuviera elevada; sin embargo, estos resultados coinciden con los reportados por González de Bulnes *et al.* (2000), quienes mencionan que la concentración de progesterona no se altera por la cantidad o área de cuerpos lúteos presentes. Evans y Robinson (1980)

reportan que el aumento de las concentraciones plasmáticas de progesterona puede ser el resultado de la actividad de los folículos grandes luteinizados. Por otro lado Wiseman *et al.*, (2011), reportaron que en truchas el selenio favorece la esteroidogénesis cuando se administra por un periodo prolongado, aunque, este efecto no se observó en las Cabras de esta investigación y pudiera atribuirse a efecto diferencial de especies.

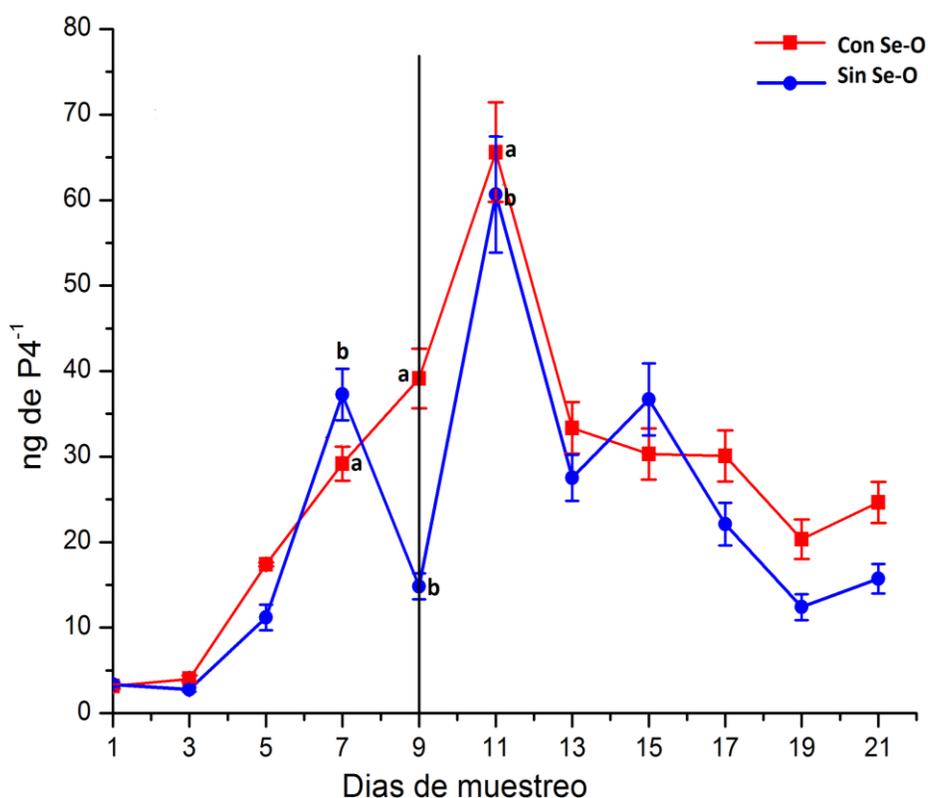


Figura 14. Concentraciones plasmáticas de progesterona, como respuesta al suministro de Se-O en cabras. Sin Se-O= sin Selenio orgánico, Con Se-O= Tratamiento con Selenio orgánico, Ovx= ovariectomía (P≤ 0.05).

VIII. CONCLUSIONES

El Se-O aumentó tanto el número de folículos pequeños, como el número de cuerpos lúteos y este aumento fue mayor en su efecto tardío.

De las características morfométricas del ovario, el largo se aumentó como efecto inmediato y como efecto tardío todas las medidas evaluadas fueron favorecidas, dando como resultado aumento en el tamaño del ovario.

La irrigación observada en cortes histológicos permite concluir que el Se-O favorece la irrigación de folículos en diferentes estadios de desarrollo.

El Se-O propició la presencia de estructuras ováricas no identificadas, presentando apariencia de folículo o de estructura luteinizada.

El suministro de Se-O a cabras no alteró las concentraciones de estradiol ni las de progesterona.

La concentración sérica tanto de estradiol como de progesterona fueron diferentes (días nueve y veintiuno, en estradiol y días siete y once, en progesterona).

IX. LITERATURA CITADA

- Abedelahi, A.**, Salehnia, M., Allameh, A. A., Davoodi, D. 2013. Sodium selenite improves the in vitro follicular development by reducing the reactive oxygen species level and increasing the total antioxidant capacity and glutathione peroxidase activity. *Human Reproduction*. Vol. 25, Pp. 977-985.
- Adashi, E.**, P. B. Jones., A. J. Hsueh. 1981. Synergistic effect of glucocorticoids on the stimulation of progesterone production by follicle-stimulating hormone in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology* 109(6):1888-94.
- Admed, C.**, E., Dess, W.L., and Ojeda, S. R. 1986. The immature rat ovary is innervate by vasoactive intestinal peptide (VIP)-containing fibers and responds to VIP with steroid secretion. *Endocrinology* 118, 1682-1689.
- Aisen, E. G.** 2004. Reproducción ovina y caprina, primera edición, Inter-médica. Pág.11-23.
- Arbiza, S.** 1986. Razas caprinas. Producción de Caprinos. S. Arbiza. México, AGT. pp 77 - 114
- Arthur, J.R.** 2000. The glutathione peroxidases. *Cell Mol Life Sci.* 57:1825-1835.
- Baboir, B.M.** 1984. The respiratory burst of phagocytes. *J Clin. Invest.*, 73, 599- 602
- Baker, S. S.**, Cohen H.J. 1983. Altered oxidative metabolism in selenium-deficient rat granulocytes. *J Immunol.*, 130, 2856-2860
- Behne, D.** y Kyriakopoulos, A. 2001. Mammalian selenium-containing proteins. *Annu. Rev. Nutr.* 21:453-73.
- Bekheet, S.H.**, 2010 Comparative effects of repeated administration of cadmium chloride during pregnancy and lactation and selenium protection against

cadmium toxicity on some organs in immature rats' offsprings. Hum Reprod.(4):977-85.

Bohinski, R. C. 2000. Bioquímica. 5ª ed. Ed. Adisson Wesley Iberoamericana. México. Pag.430-431

Ceballos A.1999. Retención de placenta asociada con la deficiencia de selenio en bovinos lecheros. Despertar lechero; 16:45-61.

Cerri, R. L. A., H.M. Rutigliano, F.S. Lima, D.B. Araújo, J.E.P Santos. 2008. Effect of source of supplemental selenium on uterine health and embryo quality in high-producing dairy cows. Theriogenology. 71:1127-1137.

Church, D. C., W. G. Pond, K. R. Pond 2007. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales, Séptima Edición, Editorial Limusa Wiley, Págs., 219-223.

Chang R. 2010. Química, décima edición. Editorial Mc Graw-Hill. Pág., 350.

Chemineau, P., Malpoux, B., Delgadillo, J. A.,Guérin, Y., Ravault, J. P., Thimonier, J., Pelletier, J., 1992. Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. Anim. Reprod. Sci. 30, 157-184.

Chow CK .1979. Nutritional influence on cellular antioxidant defense systems. Am J Clin Nutr; 32: 1066-1081.

Coskun, A., Arikan, T., Kilinc, M., Arikan, D.C., Ekerbiçer, H.Ç,. 2013. Plasma selenium levels in Turkish women with polycystic ovary syndrome. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 168(2):183-186.

Cruz, Monterrosa R.G., Ramírez-Bribiesca E., Cobos Peralta M.A., Revilla Vázquez A.L., Crosby Galvan M.M., Cordero Mora J.L. 2011. Disponibilidad de Selenio complementado con selenito de sodio y selenometionina en corderos. Revista Científica Veterinaria 1: 31-38.

- De la Rosa Carbajal, S.** 2011. Manual de Producción Caprina, primera edición, Fromosa. México.
- Delgadillo S. J. A.** 2005. Inseminación Artificial en Caprinos, Primera Edición, Editorial Trillas. Pág., 15-26.
- DGEA.** 1989. Dirección General de Economía Agrícola. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos, México Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Programas/Paginas/default.aspx>, visitada el día 24 03 2014.
- Dyce S. W.** 2010. Veterinary Anatomy, Cuarta edición, Saunders Elsevier, Págs. 168-169.
- Evans, G.,** Robinson T.J.1980. The control of fertility in sheep: endocrine and ovarian responses to progestagen- PMSG treatment in the breeding season and in anoestrus. J Agric. Sci. 94: 69-88.
- Erickson G.,** Magoffin D., Dyer C., Hofeditz, C. 1985. The ovarian androgen producing cells: a review of structure/ function relationships. Endocrinol Rev. 6:371-399.
- FDA.** 2005. FDA permits the use of selenium yeast in sheep and goat feed. Disponible en: http://fda.gov/cvm/CVM_UPdates/SEsheep.htm. Pagina visitada el 22 de marzo de 2014.
- Finch J. M.,**Turner R.J. 1996. Effects of selenium and vitamin E on immune responses of domestic animals. Res. Vet. Sci., 60, 97-106.
- Ganong, F.** 2004. Fisiología Médica, 20° Edición, El manual Moderno, Págs., 387-412.

Gao, R., Zhao, L., Liu, X., Rowan, B.G., Wabitsch, M., Edwards D.P., Nishi, Y., Yanase, T., Yu, Q., Dong, Y., 2012 .Methylseleninic acid is a novel suppressor of aromatase expression. *J. Endocrinology*. 212:199-205

González de Bulnes., J, Santiago Moreno., A, Gomez Brunet, and A., López S. 2000. Relationship between ultrasonographic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration during the oestrous cycle in monovular ewes. *Reprod. Dom. Anim*. 24: 54-57.

Gordon D. Niswender, Jennifer I. Juengel, Patrick J. Silva, M. Keith Rollyson, and Eric W. Mcintosh. 2000. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory, Colorado State University, Fort Collins, Colorado, Physiological Reviews* Vol. 80, No. 1, 1-29.

Grazul-Bilska A.T., Caton, J.S., Arndt, W., Burchill, K., Thorson, C., Borowczyk, E., Bilski, J. J., Redmer, D.A., Reynolds, L.P., Vonnahme, K.A. 2009. Cellular proliferation and vascularization in ovine fetal ovaries: effects of undernutrition and selenium in maternal diet. *137(4)*: 699-707.

Griffiths, L.M., Loeffler, S.H., Socha, M.T., Tomlinson, D.J., Johnson, A.B. 2007. Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper, and cobalto on lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. *Animal Feed Sci and Technol*. 137:69-83.

Gudmundsdóttir, K.B., Jakob, K., Sigurdur, S., Tryggvi, E., and Torkell, J. 2008. Glutathione peroxidase (GPX) activity in blood of ewes on farms in different scrapie categories in Iceland, *Acta Veterinaria Scandinavica*. 50:23.

Hafez E.S.E. 2002. Reproducción e inseminación artificial en animales, Séptima edición. Editorial Mc Graw-Hill Interamerica.

- Halliwell, B.** 1996. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutrition*.16: 33-50.
- Hubel, C.A.** Roberts J.M., Taylor R.N. 1989. Lipid peroxidation in pregnancy: new perspectives on pre-eclampsia. *Am J Obstet. Gynecol.* 161: 1025-1034.
- Hills, R.,** Wyse, G. A., Anderson M. 2004 *Fisiología Animal*, Cuarta edición, Editorial Médica Panamericana, Págs. 501-511.
- Hirshfield A.** 1991. Development of follicles in the mammalian ovary. *Int. Rev. Cytol.* 124: 43-101.
- Hunter, M.G. 1991.** Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. *J. of Reproduction and Fertility* 43: 91-99.
- Kamada, H. Ikumo, H.** 1997. Effect of selenium on cultured bovine luteal cells. *Anim. Repr. Sci*, v.46, p.203-211.
- Karsch, F.J.** Moenter, S.M., Caraty, A. 1992. The neuroendocrine signal for ovulation. *Anim. Reprod. Sci.* 28: 329-341.
- Larkins, N. J.** 1999. Free radical biology and pathology. *J Equine Vet. Sci.* 19: 84-89.
- Lawrence T.,** Dekel N., Beers W. 1980. Binding of human chorionic gonadotropin by rat cumuli, oophori, and granulosa cells: a comparative study. *Endocrinology* 106: 1114-1118.
- Legan J.S.** and KarschJF. 1979. Neuroendocrine regulation of the estrous cycle and seasonal breeding in the ewe. *Biol Reprod.* 20: 74-85.
- Leung, P.,** Adashi, Eli. 2004. *The Ovary.* 2ª ed., Ed. Elsevier, E. U, pp: 45 – 50.

- Lindsay D.R.** 1991. Reproduction in the sheep and the goat. *In*: Cupps TP (ed.). Reproduction in Domestic Animals. San Diego (Ca): Academic Press Inc. Pag. 491-515.
- Lintern-Moore S.**, Peters H., Moore G., Faber M. 1974. Follicular development in the infant human ovary. *J Reprod Fertil* 39: 53-64.
- López, A.** Alonso M., Miranda M., Hernández J., Castillo C., Benedito J.L. 1997. Glutathión peroxidasa (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en rumiantes. *Arch. med. vet.* v.29 n.2
- López-Gutiérrez A.G.**, J.E. Ramírez Bribiesca, R. López Arellano, A. Revilla Vázquez, J. Tórtora Pérez, J.R. Bárcena Gama. 2012. Balance de selenio en corderos suplementados con selenio orgánico. *Universidad y Trópico Húmedo* 28(2): 173-180.
- Madibela O.R.**, Mosimanyana, B.M., Boitumelo, W.S., Pelaelo, T.D. 2002. Effect of supplementation on reproduction of wet season kidding Tswana goats. *South African J of Animal.* 32: 14-22.
- Maiorino M.**, Flohe L., Roveri A., Steinert P., Wissing J.B., and Ursini F. 1999. Selenium and reproduction. *Biofactors* 10: 251-256.
- McDowell, L. R.** 1997. Trace element supplementation in Latin America and the potential for organic selenium. *Proc. Alltech's 13 th Annual Biotechnology in the Feed Industry.* Pág. 45.
- McCoy-Kim, E.N.** and Weswig, G. H. 1969. Some selenium responses in the rate not related to vitamin E. *J. Nutr.* 98: 383-389.
- McClure, T.J.**, Eamens, G.J., and Healy, P.J. 1986. Improved fertility in dairy cows after treatment with selenium pellets. *Australian. Vet. J.* 63: 144-146.

- Miranda J.L.**. 2007. Regulation of cholesterol intake by the corpus luteum, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, Canada.
- Nad. P.**, Massanyi, P., Skalicka, M., Korenekova, B., Cigankova, V., Almasiova, V. 2007. The effect of cadmium in combination with zinc and selenium on ovarian structure in Japanese quails. *J. of Env. Sci. and Health Part A* 42, 2017–2022.
- Niswender, G. D.** and T. M. Nett. 1994. Corpus luteum and its control in infraprimate species. *The Physiology of Reproduction*, Edited vol. 1, p.781–816.
- Nutrient Requirements of Small Ruminants NRC.** 2007. Sheep, goats, cervids, and new world camelids. Sixth Edition The National Academy Press, Washington, D.C. 362 p.
- Pardee, A.B.** 1989. Events and regulation of cell proliferation. *Science*; 246: 603-608.
- Ramírez- Bribiesca Efrén.**, Hernández Camacho Efrén., Hernández Calva Luz M., y Tortora Pérez Jorge L. 2004. Efecto de un suplemento parenteral con selenito de sodio en la mortalidad de corderos y los valores hemáticos de selenio. *Agrociencia* 38: 43-51.
- Ramírez-Bribiesca, J.E.**, J.L. Tórtora., M. Huerta., L.M. Hernández., R. López., M.M. Crosby. 2005. Effect of selenium-vitamin E injection in selenium-deficient dairy goats and kids on the Mexican plateau. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 5(1): 77-84.
- Rotruck, J.T.** Pope A.L., Ganther H.E., Swanson D.G., Hafeman D.G., Hoexstra W.G. 1973. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science.* 179: 588-590.

- Russel, A.J. F., J.M. Doney, and R.G. Gunn.** 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J Agric. Sci.* 72: 451-454.
- Smith, M.F., McIntush E.W., Smith, G.W.** 1994. Mechanisms associated with corpus luteum development. *J Anim. Sci.* 72: 1857-1872.
- Silvia, W.J., S.T. Lewis, G.S., McCracken, J.A., Thatcher, W.W., Wilson, L.** 1991. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F2alpha during luteolysis in ruminants. *Biol. Reprod.* 45: 655-663.
- Stryer Lubert.** 2002. *Bioquímica.* Quinta edición. Editorial Reverte. Pág. 686.
- Suzuki, K.T., Somekawa, L., Kurasaki, K. y Suzuki, N.** 2006. Simultaneous tracing of ⁷⁶Se-selenite and ⁷⁷Se-selenomethionine by absolute labeling and speciation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 217: 43-50.
- Trinder N., Hall R.J., Renton C.P.** 1973. The relationship between intake of selenium and vitamin E on the incidence of retained placenta in dairy cows. *Vet. Rec.* 93: 641-643.
- Toyokuni, S.** 1999. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol. Int* 42: 91-102.
- Underwood, E. J., and Suttle, N.F.** 1999. *The Mineral Nutrition of Livestock.* 3rd Ed. CABI, Wallingford, UK. Pag. 215-219
- Utterback, P.L., Parsons, C.M., Yoon, I., Butler J.** 2005. Effect of supplementing selenium yeast in diets of laying hens on egg selenium content. *J Anim. Sci.* 84:1900-1908.
- Valdiglesias, V., Laffon, B., Pasaro, E. y Méndez, J.** 2008. Evaluación del efecto de la selenometionina sobre la reparación del daño en el ADN. *Revista Real Academia Galega de Ciencias.* Vol. XXVII. Pág. 41-94.

- Walters, D.**, y Schallenberger, E., 1984. Pulsatile secretion of gonadotropins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during the periovulatory phase of the oestrus cycle in the cow. *J. Rep. and Fertility* 71: 503-512
- Wassarman P.**, Liu, C., Litscher, E. 1996. Constructing the mammalian egg zona pellucida: some new pieces of an old puzzle. *J Cell Sci*; 109: 2001-2004.
- Wiseman, S.**, Thomas, J.K., Higley, E., Hursky, O., Pietrock, M., Raine J.C., Giesy, J.P., Janz, D.M., Hecker, M. 2011. Chronic exposure to dietary selenomethionine increases gonadal steroidogenesis in female rainbow trout. *J Endocrinol.*212(2):199-205
- Wiltbank, M.C.**, y Niswender, G.D. 1992. Functional aspects of differentiation and degeneration of the steroidogenic cells of the corpus luteum in domestic ruminants. *Anim. Reprod. Sci.* 28: 103-110.
- Wolfram, S.** 1999. Absorption and metabolism of selenium: differences between inorganic and organic sources. *Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's 15th Annual Symposium.* Edited by T.P. Lyons and K. A. Jacques. Págs. 547-560.
- Yue,** Wenbin, Zhang Chunxiang, Shi Liguang, Ren Youshe, Jiang Yusuo y Kleemann. 2009. Effect of supplemental selenomethionine on growth performance and serum antioxidant status in taihang black goats. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 3:365-370.
- Zoller L.**, and Weisz J. 1979. Identification of cytochrome P-450, and its distribution in the membrana granulosa of preovulatory follicle using quantitative cytochemistry. *Endocrinology.* 103: 310-3.

X. ANEXOS

Anexo 1. Características bromatológicas de ensilaje y mazorca molida.

Ingrediente	MS	Cenizas	Nitrógeno	Proteína	Proteína	FDN	FDA
	%	%	%	BS%	BH%	%	%
Ensilaje	84.81	6.11	1.57	11.60	9.8	29.41	15.09
Mazorca Molida	90.68	1.95	1.28	8.77	7.9	35.58	13.88

Alimentación suministrada a las cabras durante el experimento. **MS**= Materia Seca, **BS**= Base Seca, **BH**= Base Humedad, **FDN**= Fibra Detergente Neutro, **FDA**= Fibra Detergente Acida.

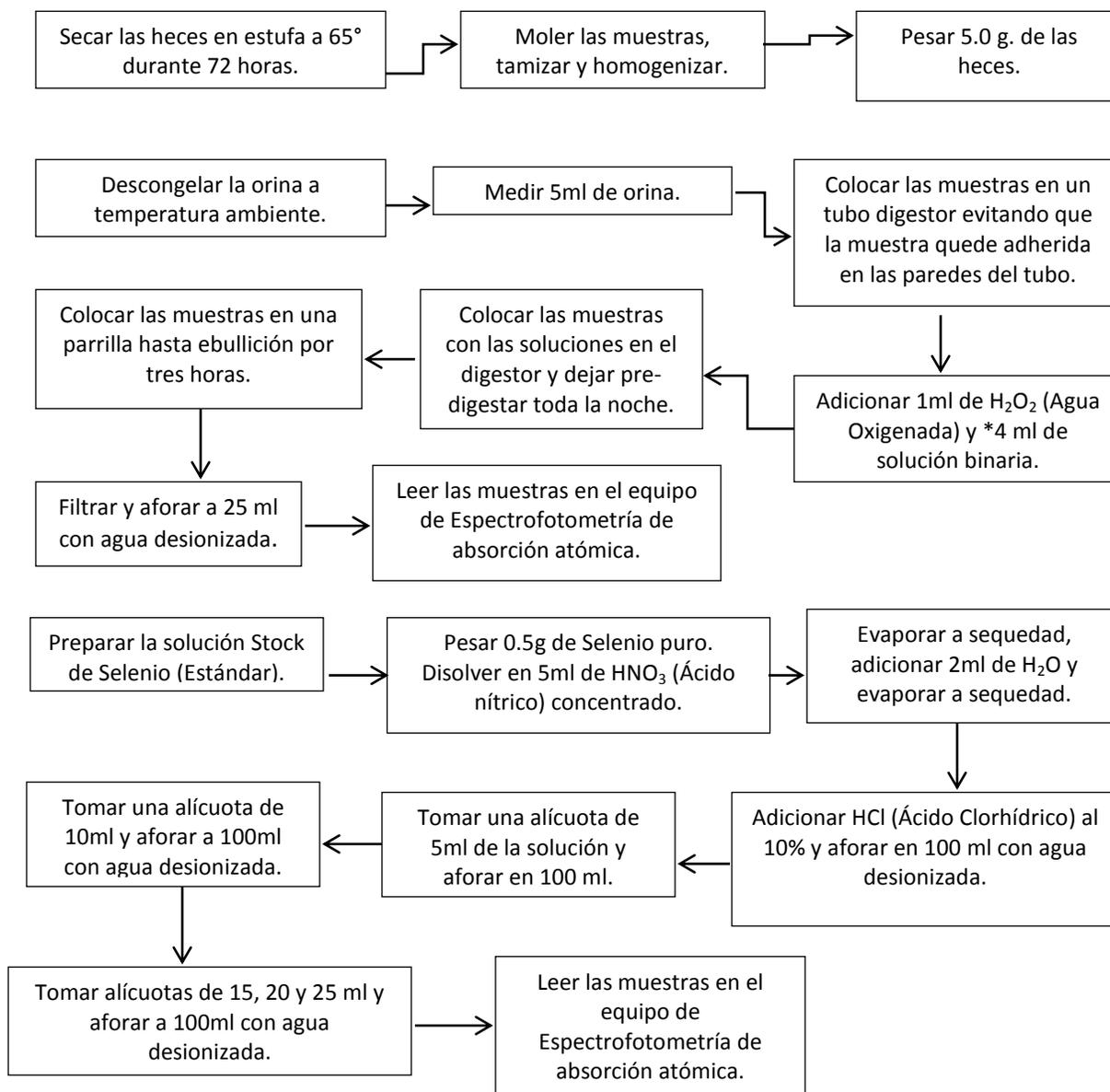
Anexo 2. Elementos encontrados, por microscopía electrónica de Barrido, en ensilado de maíz y mazorca molida.

Elemento	Ensilado de Maíz	Mazorca Molida
	Peso %	
Carbono (C)	49.73	27.32
Oxígeno (O)	42.40	27.95
Silicio (Si)	2.69	20.82
Cloro (Cl)	0.65	4.76
Potasio (K)	3.35	19.15
Calcio (Ca)	1.18	-----
	100.00	100.00

Anexo 3. Retención de Se-O en heces y orina de cabras experimentales.

Días	Sin Se-O				Con Se-O			
	7	14	21	28	7	14	21	28
Consumido, mg d⁻¹					0.615	0.615	0.615	0.615
Heces	0.044	0.05	0.32	0.41	0.27	0.31	0.44	0.16
Orina	0.075	0.083	0.17	0.26	0.041	0.045	0.042	0.32
Heces + orina	0.119	0.133	0.49	0.67	0.311	0.355	0.482	0.48
Retenido					0.304	0.26	0.133	0.135

ANEXO 4. Técnica de valoración indirecta de selenio retenido en el organismo de la cabra



* Solución Binaria: 1 ml de HClO_4 (Ácido Perclórico) + 4ml H_2SO_4 (Ácido sulfúrico). Nota: Agregar la solución binaria de 1ml en 1ml, ya que si adicionamos los 4 ml podría provocar una reacción explosiva.

