



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

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

**PROGRAMA DE POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA**

PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DE OVEJAS EN ANESTRO ESTACIONAL CON DOS FUENTES DE SELENIO

ALFREDO GARRIDO ARCOS

T E S I S

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

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2018

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe Alfredo Garido Arcos, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser participe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor Leonor Miranda Jiménez, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis Parámetros reproductivos de ovejas en anestro estacional con dos fuenetes de Selenio

y de los producto de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre el colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 23 de Enero de 2018

Firma del
Alumno (a)

Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **Parámetros reproductivos de ovejas en anestro estacional, con dos fuentes de Selenio**, Realizada por el alumno: **Alfredo Garrido Arcos**, 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

CONSEJERA



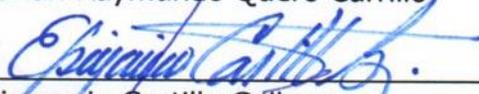
Leonor miranda Jiménez

ASESOR



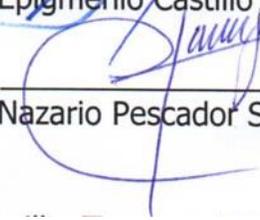
Adrián Raymundo Quero Carrillo

ASESOR



Epigmenio Castillo Gallegos

ASESOR



Nazario Pescador Salas

Montecillo, Texcoco, Estado de México, febrero de 2018.

PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DE OVEJAS EN ANESTRO ESTACIONAL, CON DOS FUENTES DE SELENIO

Alfredo Garrido Arcos, M. en C.
Colegio de Postgraduados, 2018

RESUMEN

El Selenio (Se) mineral esencial ayuda a mantener las funciones reproductivas. Esta investigación se realizó a partir de la hipótesis, que diferentes fuentes de Se estimulan la concentración de Estradiol (E_2), Progesterona (P_4) y mejora; tasa de concepción (TC), prolificidad (P) y peso de corderos al nacimiento (PCNC). El objetivo fue evaluar concentración sérica de E_2 y P_4 , así como parámetros reproductivos (TC, P y PCNC) en ovejas con dos fuentes de Se vía oral. Se utilizaron cuatro grupos con cinco ovejas cada uno: Testigo, Selenito de Sodio, Selenio en levadura y Selenio en levadura protegido en micro-partículas. Se aplicó dosis de 0.3 ppm día¹ animal⁻¹ cinco días consecutivos; la aplicación se inició seis días antes de la inseminación (IA) para la cual se sincronizo estro, un día antes de IA se realizó muestreo sanguíneo hasta tres días consecutivos post IA para E_2 . Para P_4 se prolongó hasta 27 días post IA de forma no consecutiva, la determinación de estas hormonas se realizó con Inmunoanálisis Quimioluminiscente de Micropartículas. Para TC (%TC= número de ovejas detectadas gestantes/número de ovejas inseminadas x 100) para el caso de P (%P= número de corderos nacidos/número de ovejas paridas) y PCNC se obtuvo pesando cada cordero al momento de su nacimiento. El diseño experimental fue completamente al azar y los datos se evaluaron con modelos para efectos mixtos. No hubo diferencias estadísticas entre tratamientos en ningún parámetro productivo-reproductivo evaluado ($P \leq 0.05$) ni en concentraciones séricas de E_2 y P_4 ($P \geq 0.05$), sin embargo en interacciones día por tratamiento sí presentó diferencias ($P \leq 0.05$). Para E_2 la comparación de T2 contra las medias conjuntas de T3 y T4 mostró diferencia los días uno y dos posteriores a IA ($P \leq 0.05$). La comparación de fuentes orgánicas de Se fue diferente dos días posteriores a IA ($P \leq 0.05$). Para P_4 las medias acumuladas T1 contra T2, T3 y T4, así como medias conjuntas de T2 contra T3 y T4 fueron diferentes los días dos y uno antes de IA ($P \leq 0.05$) y tendencia significativa veintisiete días post IA para ambos casos. la comparación de T3 con T4 fue diferente los días dos y uno antes de IA y tendencia a la significancia veinte días post IA ($P \leq 0.05$). El Se orgánico mejora la concentración sérica de E_2 y P_4 en ciertos días del ciclo estral, pero no afectó parámetros productivos-reproductivos aquí evaluados.

Palabras claves: Selenio Orgánico, Selenito de Sodio, Estradiol, Progesterona, Prolificidad.

SHEEP REPRODUCTIVE PARAMETERS IN SEASONAL ANESTHES, WITH TWO SOURCES OF SELENIUM

Alfredo Garrido Arcos, M. en C.
Colegio de Postgraduados, 2018

ABSTRACT

Selenium (Se) an essential mineral helps to maintain reproductive functions; This investigation was carried out from the hypothesis that different Selenium sources stimulates Estradiol (E_2), and Progesterone (P_4) concentration and also improves conception rate (TC), prolificacy (P) and lam litter weight (PCNC). The objective was to evaluate E_2 and P_4 serum concentration as well as the TC, P and PCNC productive and reproductive parameters in sheep under two oral Se sources. Four groups with five ewes each were used: Control, Selenite sodium, Selenium in yeast and Selenium in yeast protected in micro-particles with 0.3 ppm day¹ animal⁻¹ each, applied by five days. Application was started six days before artificial insemination (AI). For E_2 concentration blood sampling was collected; starting one day before IA and by three consecutive days post IA. For P_4 blood sampling was prolonged by 27 days post AI in a non-consecutive way. Hormone concentrations were detected by Chemiluminescent Microparticles Immunoassay. For TC (% TC = number of pregnant sheep detected/number of IA sheep x 100), prolificacy (% P = number of lambs born/number of boring sheep) and the litter weight was obtained by weighing each lamb at time birth. The experimental design was completely randomized, data were evaluated by a mixed effects models. There were no statistical differences between treatments in productive-reproductive parameters and also serum E_2 and P_4 concentrations ($P \geq 0.05$, however, in interactions day-by-treatment there were differences ($P \leq 0.05$). Comparison of T2 against T3 and T4 shows difference for E_2 at one and two days after AI ($P \leq 0.05$). Comparison between organic Se sources present differences two days after AI ($P \leq 0.05$). For P_4 , accumulated mean comparing of T1 against T2, T3 and T4, as well as comparison of T2 against T3 and T4 were different on days two and one before AI and also significant trend was present at twenty-seven days post AI ($P \leq 0.05$). Finally, comparing T3 against T4, They were different between days two and one before AI and also have significant tendency twenty days after AI. Organic Selenium source improves serum E_2 and P_4 concentration only certain days of the estrous cycle but not improved other productive-reproductive parameters.

Key Words: Organic Selenium, Sodium Selenite, Estradiol, Progesterone, Prolificity.

AGRADECIMIENTOS

A CONACyT (**Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología**) por el apoyo económico que permitió pudiera continuar con mis estudios y lograr aportar en el área de la investigación.

A esta gran casa de estudios (**Colegio de Postgraduados**) por permitir que durante mi estancia aquí pudiera adquirir una gran cantidad de amigos y brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría.

A mis padres y hermanos quienes me han apoyado durante toda la vida de manera incondicional.

A mi novia Ximena Cruz Razo por apoyarme incondicionalmente durante toda mi maestría.

A los señores Don Enrique y Andrés por permitirme trabajar con sus ovejas y de esta manera lograr realizar la presente investigación.

A mis compañeros y amigos Rigoberto, Xavier, Edith, Uriel, Nancy y Francisca por apoyarme durante la investigación.

A los doctores quienes sin excepción alguna son grandes profesionistas y mejores seres humanos.

Dra. Leonor Miranda Jiménez

Dr. Adrián Raymundo Quero Carrillo

Dr. Epigmenio Castillo Gallegos

Dr. Nazario Pescador Salas

CONTENIDO

RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. JUSTIFICACIÓN	2
III. HIPÓTESIS	3
IV. OBJETIVOS	3
4.1 Objetivo general	3
4.2 Objetivos particulares	3
V. REVISIÓN DE LITERATURA	3
5.1 Selenio	4
5.1.1. Selenio Inorgánico	6
5.1.2. Selenometionina (SeMet).	6
5.1.3. Selenocisteina (SeCys).	7
5.1.4. Metabolismo del Selenio.	9
5.1.5. Funciones biológicas del Selenio	10
5.1.6. Selenio en la reproducción	11
5.2. Fotoperiodo	12
5.2.1. Anestro estacional.....	13
5.3. Características del ovario	15
5.3.1. Folículos	15
5.3.2. Cuerpo lúteo	16
5.4. Hormonas esteroideas	17
5.4.1. Estradiol (E ₂)	17
5.4.2. Progesterona (P ₄)	18
5.5. Implantación	19
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	20
6.1 Ubicación del Área de Estudio	20
6.2 Animales	20
6.3 Sincronización de estros	21
6.4 Tratamientos con Selenio	21
6.5 Toma de Muestras Sanguíneas	21
6.6 Diagnóstico de Gestación	22
6.7 Variables evaluadas	23
6.8 Diseño experimental	23
6.9 Análisis estadístico	24
VII. RESULTADOS Y DUSCUSIÓN	24
7.1 Estradiol	24
7.2 Progesterona (P₄)	29

7.3 Prolificidad.....	33
7.5 Peso de los corderos al nacimiento por camada	35
VIII. CONCLUSIONES	36
IX. LITERATURA CITADA.....	37

LISTA DE IMÁGENES

Figura 1. Estructura química de Metionina (a) y SeMet (b)).....	7
Figura 2. Comparación entre las moléculas de SeCys y Cysteina, con diferencia entre moléculas en el contenido de Se y Azufre, respectivamente.	9
Figura 3. Metabolismo de Se en mamíferos. Los metabolitos de Se en la alimentación (a) son agregados a la célula y, junto con la reserva intracelular (b), serán metabolizados por diferentes rutas que desembocan en Selenuro, este actuará como fuente de Se para la biosíntesis de SeCys. (C) La evacuación del exceso de Se se efectúa mediante compuestos metilados de Se y Selenoazúcares.	10
Figura 4. Época reproductiva y anestro estacional de ovinos en latitudes >35°.	14
Figura 5. Concentración sérica de estradiol en ovejas en anestro estacional que recibieron dosis oral (0.3 ppm) de tres diferentes fuentes de Se , durante cinco días consecutivos anteriores a la IA. T1= Testigo, sin Se; T2= Selenito de Sodio (inorgánico); T3= Se en levadura (orgánico); T4= Se en levadura y encapsulado (orgánico).....	27
Figura 6. Concentraciones séricas de progesterona a diferentes días del tratamiento en ovejas en anestro estacional con dosis oral (0.3 ppm) de Se de tres diferentes fuentes. T1: Testigo, T2: selenito de sodio (Na ₂ SO ₃), T3: Se en levadura, T4: Se en levadura; encapsulada en partículas a base de alginato de sodio.....	30
Figura 7. Prolificidad de las ovejas por tratamiento con Se . Ovejas en anestro estacional recibieron dosis oral (0.3 ppm) de Se en tres diferentes fuentes, durante cinco días consecutivos anteriores a la IA.	34
Figura 8. Número de hembras gestantes o vacías (Tasa de concepción) por tratamientos con Se . Ovejas en anestro estacional recibieron dosis oral (0.3 ppm) de Se en tres diferentes fuentes, durante cinco días consecutivos anteriores a la IA.....	35
Figura 9. Peso al nacimiento de corderos por camada por tratamiento con Se . Ovejas en anestro estacional recibieron dosis oral (0.3 ppm) de Se en tres diferentes fuentes, durante cinco días consecutivos anteriores a la IA.....	36

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Concentraciones plasmáticas de P ₄ en hembras ovinas, caprinas y bovinas.....	19
Cuadro 2. Contraste entre concentración sérica (pg/mL) de E ₂ para diversos tratamientos de adición de Selenio, a dosis de 0.3 ppm, durante cinco días consecutivos anteriores a la IA en ovejas con anestro estacional.....	25
Cuadro 3. Contraste entre concentración sérica (pg/mL) de E ₂ en ovejas en anestro estacional, tratadas con fuente inorgánica u orgánica de Se, para cada día de muestreo.	26
Cuadro 4. Contraste para concentración sérica (pg/mL)de E ₂ , a diferente día de muestreo, en ovejas en anestro estacional tratadas con dos Selenio orgánico con y sin encapsular.	29
Cuadro 5. Contraste para la concentración sérica (ng/mL) de P ₄ entre el testigo T1 (Sin Selenio) y diferentes fuentes de Selenio T2 (Selenito de Sodio), T3 (Selenio en levadura) y T4 (Selenio en levadura y encapsulado) en ovejas con anestro estacional.	31
Cuadro 6. Contraste entre la concentración sérica (ng/mL)media de P ₄ Selenito de Sodio (T2) y la media conjunta de Selenio en levadura (T3) y Selenio en levadura encapsulada (T4), por cada día de muestreo en ovejas en anestro estacional.	32
Cuadro 7. Contraste entre la concentración sérica (ng/mL)media de P ₄ con suplementación de Selenio en levadura (T3) y aquella observada con suplementación de Selenio en levadura encapsulada (T4), por cada día de muestreo realizado a ovejas estabuladas y en anestro estacional.	33

I. INTRODUCCIÓN

En la región que abarca del sur de Veracruz a el Altiplano central de México, la dieta proporcionada a rumiantes es deficiente de Selenio (**Se**), esto provoca que las funciones fisiológicas del ganado no se lleven a cabo de manera normal. Con la finalidad de corregir deficiencias en **Se**, este se puede proporcionar a los animales en diferentes maneras, dependiendo del estado productivo de los animales (McPherson y Chalmers, 1984).

Las formas de adicionar **Se** al ganado incluyen: soluciones inyectadas, mezclas minerales, soluciones orales, suplementos minerales a libre acceso y bolos intraruminales (López *et al.*, 2012).

En ovinos y bovinos, el **Se** previene problemas reproductivos como retención de placenta, mastitis, metritis, aborto, crías débiles y aumenta la tasa de concepción (Cerri *et al.*, 2008); en folículos y cuerpo lúteo, estimula el número de estas estructuras (Hefnawy y Pérez, 2008). Al presentarse folículos viables estimulados por **Se** es factible que aumente la concentración sérica de E₂ (Estradiol), hormona que desempeña diferentes funciones; por ejemplo: interviene en la conducta sexual interna y externa, presenta acción local en los folículos ováricos, favorece el crecimiento de la granulosa y también actúa a nivel de útero.

La Progesterona (P₄), hormona esteroidea, tiene entre sus principales funciones: inducción de ovulación, favorecer la implantación y mantenimiento de preñez, promover el desarrollo lobular-alveolar de la glándula mamaria. Esta hormona es sintetizada en su mayoría por el cuerpo lúteo y en menor cantidad por la placenta (Al-Asmakh, 2007). Según Vázquez *et al.* (2017), el **Se** orgánico aumenta el número de cuerpos lúteos y tamaño del ovario, indicativo de mayor concentración de P₄.

La presente investigación se realizó a partir de la hipótesis que el **Se** suplementado a ovejas en anestro estacional, en cualquiera de sus fuentes, mejora la concentración de P₄, E₂; así como la tasa de concepción, prolificidad y peso al nacer de corderos.

II. JUSTIFICACIÓN

El **Se** es un oligoelemento requerido para llevar a cabo funciones en el organismo de manera eficiente y su deficiencia provoca diversas alteraciones en el funcionamiento general del mismo y, específicamente, en la reproducción (Hefnawy y Pérez, 2008). Los alimentos que se producen y proporcionan a los animales, son deficientes o carecen de **Se**; por lo cual, se recomienda proveer este mineral, como suplemento, a los animales. La deficiencia de **Se** se puede evitar o subsanar de manera diferente y esta está estrechamente ligada a la condición productiva de los animales por la necesidad metabólica de este mineral (McPherson y Chalmers, 1984).

La forma de aplicación de **Se** es por vía oral o parenteral y puede aplicarse en presentación inorgánica u orgánica, esta última llamada de esta manera por encontrarse unida a aminoácidos (Gutiérrez *et al.*, 2012).

Los problemas reproductivos controlados con frecuencia mediante aplicación de **Se** en cualquiera de sus formas incluyen: retención de placenta, mastitis, metritis, aborto y crías débiles (Cerri *et al.*, 2008).

Para sincronizar y homogenizar estros sin disminuir eficiencia reproductiva se recomienda utilizar **Se** en combinación con vitamina E (Fraire-Cordero *et al.*, 2013). A nivel de ovario el **Se** favorece el número de folículos y cuerpos lúteos (Vázquez *et al.*, 2017) lo que hace suponer que la concentración de E₂ y P₄ también se modifica. Sin embargo, estudios al respecto son necesarios en cualquier especie. Por tanto, el objetivo de la presente investigación fue: Evaluar

la concentración sérica de E₂ y P₄; similarmente, las tasas de concepción, prolificidad y peso al nacer de corderos de hembras ovinas, con aplicación oral de dos fuentes de Se (orgánico e inorgánico).

III. HIPÓTESIS

El Selenio otorgado en cualquiera de sus fuentes, mejora los parámetros reproductivos de ovejas en anestro estacional.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Utilizar dos fuentes de Se (orgánico e inorgánico), para mejorar parámetros reproductivos en ovejas en anestro estacional.

4.2 Objetivos particulares

- ❖ Determinar la concentración sérica de Estradiol (E₂).
- ❖ Determinar la concentración sérica de Progesterona (P₄).
- ❖ Determinar el porcentaje de concepción
- ❖ Determinar el porcentaje de prolificidad
- ❖ Determinar el peso al nacer de la camada de corderos

V. REVISIÓN DE LITERATURA

Los ovinos en México son criados en forma general, por pequeños productores rurales con ingresos limitados, escaso acceso a insumos y tecnología; lo anterior, limita la generación y utilización de

habilidades de manejo que mejoren la producción, reproducción y valor genético de los animales (González *et al.*, 2010).

La producción ovina es una actividad común en el mundo; en México, es una fuente de ingresos, importante sobre todo, en zonas rurales. Para alimentarlos, los productores utilizan, de forma generalizada, subproductos agrícolas y alimentos fibrosos que reduzcan costos de producción (Galaviz *et al.*, 2011).

En México, la demanda de carne ovina para la elaboración de barbacoa o birria; en su mayoría, es alta. Sin embargo, la producción nacional no es suficiente y por ello, aproximadamente 55% de esta demanda, es cubierta con importaciones, regularmente de vientres de desecho y canales congeladas provenientes de Australia, Nueva Zelandia y Estados Unidos (Aréchiga, 2008). Para mejorar esta condición en la producción de ovinos, se trabaja en la implementación de técnicas de manejo en genética, alimentación y reproducción. Con excepción del ámbito de la genética; en los otros dos, se han utilizado diferentes minerales, entre ellos el **Se** por presentar efecto antioxidante y de mejora en el funcionamiento del organismo.

5.1 Selenio

En 1817, el químico sueco Jakob Berzelius descubrió el **Selenio (Se)**, mineral que a la postre se determinaría como tóxico y al cuál, a partir de los años 50 del siglo XX, se le descubriría un efecto benéfico adicional en el plan nutricional, otorgándose a ganado. El **Se** ha sido definido como mineral esencial y es utilizado como herramienta en tratamientos contra cáncer (Valdiglesias *et al.*, 2008).

Antes de utilizar al **Se** como elemento benéfico, se efectuaron estudios para conocer el efecto tóxico en microorganismos, plantas y animales. También se han determinado los umbrales de

ingesta y el efecto benéfico para el organismo (Valdiglesias *et al.*, 2008).

El **Se** era considerado únicamente como tóxico; sin embargo, actualmente se le atribuyen beneficios para la salud humana y animal. Tiene funciones antioxidantes, de regulación hormonal y también presenta efectos anticancerígenos. El **Se** es un mineral traza, esencial para el ser humano y animales domésticos; sin embargo, no todos los forrajes contienen este mineral, dado que muchos crecen en suelos deficientes en **Se**. Por lo tanto, la necesidad de aporte de este mineral al organismo depende del **Se** contenido en los alimentos. Investigaciones de organismos oficiales encargados de determinar las necesidades medias del mineral para ganado, han determinado que el aporte de **Se** debe ser considerado siempre, no solo cuando se presentan deficiencias; lo anterior, para lograr que las funciones fisiológicas donde interviene estén llevándose a cabo de manera normal (López y López, 2013).

La forma de suministrar **Se** puede ser en presentaciones como: soluciones inyectadas, bloques de mezclas minerales, suplementos minerales adicionados a dietas comerciales, bolos intrarruminales (con uso poco frecuente); lo anterior, por el grado de complejidad para utilizarlo (López *et al.*, 2012). En investigaciones recientes, se aplica vía oral en forma de **Se** orgánico; conocido de esta manera, por estar unido a aminoácidos como Metionina y Cisteína (Cys), en forma de **Se** orgánico localizado en levaduras.

Las fuentes químicas de **Se** permitidas para aplicarlas a los animales incluyen Selenato de Sodio (Na_2SeO_4), Selenito de Sodio (Na_2SeO_3) y, a partir de 2005, la FDA permitió el uso en especies animales como cerdos, pollos, patos, borregos y bovinos, de levaduras conteniendo **Se** (Hall *et al.*, 2012) que resulta en menor efecto tóxico para el organismo. Cualquiera que sea la fuente de **Se**, este debe utilizarse a la concentración permitida de 0.3 ppm.

5.1.1. Selenio Inorgánico

La fuente inorgánica de **Se**, se encuentra en forma química como Selenito de Sodio y Selenato de Sodio; ambos, utilizados como estrategia de suplementación antioxidante. Estas presentaciones de **Se** son reducidas a Selenuro por los sistemas de Glutación-glutarredoxina y Tiorredoxina (Chumpitaz, 2011). La administración parenteral de Selenito de Sodio se ha utilizado para contrarrestar problemas reproductivos postparto y mejorar la fertilidad.

5.1.2. Selenometionina (SeMet).

La SeMet es un aminoácido análogo a la Metionina que contiene **Se** sustituyendo al átomo de Azufre (Figura 1), forma isomérica L, fuente natural común en los alimentos ricos en **Se**. Este compuesto no puede ser sintetizado por animales superiores; los cuales, lo obtienen a través de la dieta, principalmente de plantas que sí pueden incorporarlo a sus proteínas, sustituyendo a la Metionina, de forma inespecífica (Valdiglesias *et al.*, 2008).

La SeMet se absorbe con facilidad y es inmediatamente metabolizada, o bien es incorporada en la estructura de proteínas, siendo almacenada principalmente en páncreas. Las células no distinguen entre Metionina y SeMet durante la síntesis de proteínas; así que este Selenoaminoácido natural, se incorpora inespecíficamente en el cuerpo de las proteínas. La sustitución de Metionina por SeMet no produce, como norma general, alteraciones estructurales en la proteína que lo contiene, pero puede influir en la actividad de la enzima si SeMet sustituye a la Metionina en una posición próxima al sitio activo. Dado que el grupo Se-CH₃ de la SeMet es más hidrofóbico que el grupo S-CH₃ de la Metionina, los parámetros cinéticos de la proteína pueden verse afectados (Valdiglesias *et al.*, 2008).

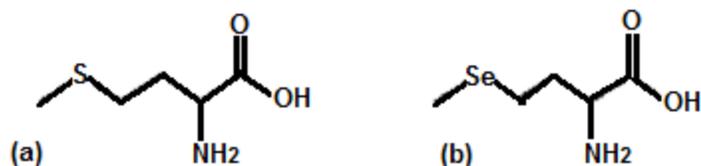


Figura 1. Estructura química de Metionina (a) y SeMet (b) Valdigués et al. (2008).

La SeMet fue identificada en los años 50 del siglo XX, como una proteína presente en cierto tipo de plantas y se comprobó que también era producida por *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, bacterias del rumen y algas marinas que crecían en medio que contiene Se (Schrauzer, 2000). Fue hasta los años 70 cuando se permitió el uso de este compuesto en la alimentación animal. Posteriormente, salen al mercado las primeras levaduras ricas en Se. Pronto se vió que la SeMet es absorbida y retenida por el organismo; desde entonces, se utiliza en dietas para aporte de Se. Para 1983, levaduras ricas en SeMet se utilizaron como fuente de Se en algunos tratamientos preventivos contra el cáncer (Schrauzer, 2001).

5.1.3. Selenocisteína (SeCys).

El Se es incorporado al esqueleto de las Selenoproteínas en unión a otro aminoácido diferente a Metionina, se trata de la Cisteína (Cys), en donde la unión con Se produce la formación de SeCys (Figura 2). Este Selenoaminoácido está distribuido en todos los dominios de los seres vivos y se encarga de la mayoría de los efectos biológicos del Se (Zhang y Gladyshev, 2009).

Los mecanismos por los que se lleva a cabo la incorporación de SeCys en una Selenoproteína en el código genético presentó cierto grado de complejidad para su entendimiento. Los codones presentaban usualmente una interpretación universal para todos, independiente del contexto donde se encuentran; el caso de SeCys es particular, porque el contexto del codón es importante. El codón UGA (codón de terminación), codifica también a SeCys, generándose así una ambigüedad. La

ambigüedad desaparece por función de un mecanismo concreto para decodificar el codón UGA que demanda la presencia de muchos elementos que operan en conjunto, siendo uno de los más importantes el elemento SECIS, (Selenocysteine Insertion Sequence) en el mRNA. Todos los genes de las Selenoproteínas contienen la información tanto del codón UGA, codificante de SeCys como del elemento SECIS. La conservación de dichos elementos en el mecanismo de inserción de SeCys ha permitido predecir y localizar los genes de Selenoproteínas usando algoritmos de bioinformática (Cañari, 2011).

La SeCys y Cysteina al igual que SeMet y Metionina, tienen como única diferencia un átomo, la primera contiene **Se** y la segunda **S**. Esta diferencia otorga propiedades fisicoquímicas diferentes a ambas moléculas, lo cual influirá en gran medida, en su actividad catalítica. Los Tioles y Selenioles se diferencian en dos aspectos principalmente: el pKa y su capacidad oxidativa. Los Selenioles ($pK_{aSeCys} = 5.24$) son más ácidos que los Tioles ($pK_{aCisteina} = 8.53$). Entonces, bajo condiciones biológicas, la SeCys se encontrará disociada y actuará como un mejor nucleófilo, es decir sede electrones. Por otro lado, la mayor accesibilidad al estado de oxidación, por vía de radicales de SeCys, le otorga ventajas redox tales como la mediación de transferencia de uno o dos electrones, frente a su análogo Cys. Estos descubrimientos coinciden con el hecho de que ciertas Selenoproteínas que tienen Cys en lugar de SeCys en sus sitios activos, exhiben disminución de hasta 100 veces su eficiencia catalítica. Sin embargo, se debe tener en cuenta que la selección evolutiva por esta alta eficiencia catalítica ha sido equilibrada con la disponibilidad de **Se** en el ambiente. La abundancia relativa entre S/Se está en el rango de 10^3 - 10^5 en la atmósfera. De esta manera, se postula que los mecanismos de evolución han generado así la distribución compleja de homólogos que contiene SeCys y Cys en la naturaleza (Cardey y Enescu, 2007).

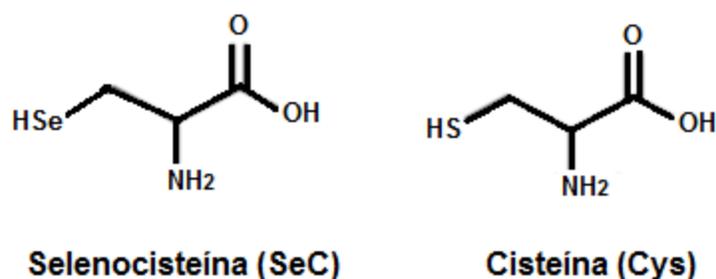


Figura 2. Comparación entre las moléculas de SeCys y Cysteina (Cañari, 2011), con diferencia entre moléculas en el contenido de Se y Azufre, respectivamente.

5.1.4. Metabolismo del Selenio.

En mamíferos el **Se** está en forma de Selenito (SeO_3^{2-}), Selenato (SeO_4^{2-}) y formas orgánicas como SeCys, SeMet, selenozúcares y compuestos de **Se** metilados de bajo peso molecular (Figura 3). Los animales pueden obtener **Se** principalmente al consumir plantas que captan el mineral del suelo en su forma inorgánica; en estas plantas, el **Se** es transformado en formas orgánicas como compuestos de **Se** metilado de bajo peso molecular y aminoácidos como SeMet y SeCys. El aminoácido SeMet es el más abundante en cereales, legumbres y soya (Cañari, 2011).

En cualquiera de sus formas, el **Se** es metabolizado hasta Selenuro (H_2Se) que es precursor de la síntesis del aminoácido SeCys (Figura 3). Por su parte Selenito y Selenato son reducidos a Selenuro por acción de Glutación-glutarredoxina y Tiorredoxina. También existe otra forma por la cual se puede generar Selenuro, mediante SeMet y SeCys en la que interviene una liasa.

La biosíntesis regulada de SeCys en el ARNt admite introducirla en Selenoproteínas por mecanismos altamente específicos. También existen rutas no específicas de anclaje de **Se** a

proteínas que se basan en la similitud de los minerales **Se** y **S** y, de esta forma, metabolizar **Se** por medio de las rutas metabólicas de Sulfuro (Cañari, 2011).

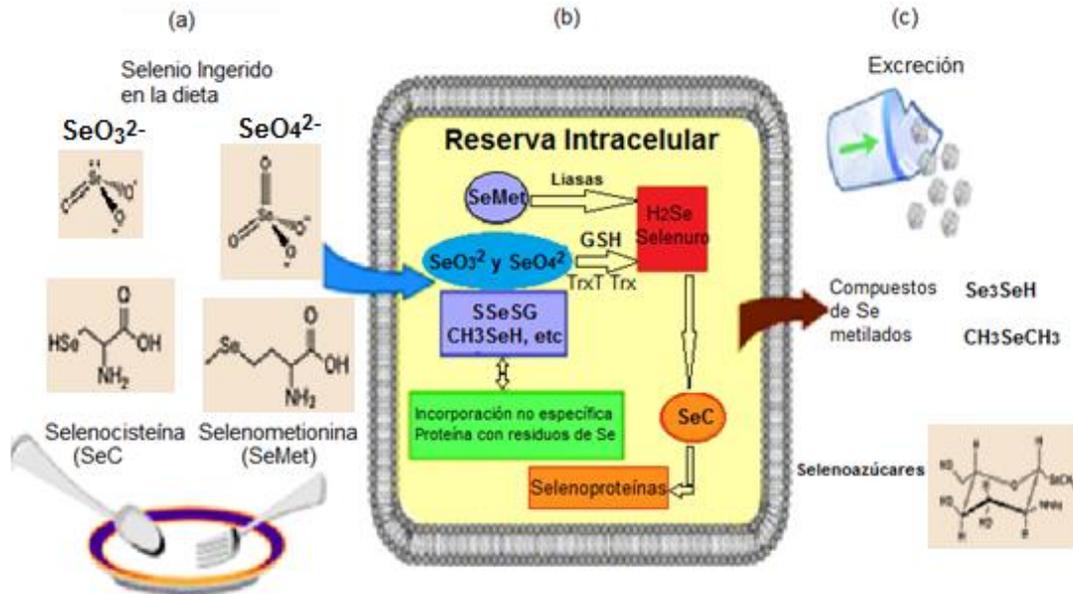


Figura 3. Metabolismo de Se en mamíferos. Los metabolitos de Se en la alimentación (a) son agregados a la célula y, junto con la reserva intracelular (b), serán metabolizados por diferentes rutas que desembocan en Selenuro, este actuará como fuente de Se para la biosíntesis de SeCys. (C) La evacuación del exceso de Se se efectúa mediante compuestos metilados de Se y Selenozúcares (Cañari, 2011).

5.1.5. Funciones biológicas del Selenio

El **Se** es parte esencial del metabolismo animal a través de las Selenoproteínas, algunas de estas presentan funciones enzimáticas de gran importancia y surgen a partir de SeCys en su estructura primaria (Sager, 2006).

Se han identificado alrededor de 35 Selenoproteínas; sin embargo, en mamíferos se han caracterizado las funciones biológicas de aproximadamente quince Selenoenzimas, siendo las más

importantes cuatro isoformas de Glutación Peroxidasa (GPx) con actividad antioxidante; tres isoformas de Tiorredoxina Reductasa, a la que se atribuye función inmunológica y participan en la regeneración de sistemas antioxidantes y en el mantenimiento intracelular del estado redox; y tres isoformas de Yodotironina Deyodinasas (IDI), involucradas en la función de hormona tiroidea en donde catalizan la desyodación de Tiroxina T4. También se encuentran la Se-proteína W y Selenofosfato sintetasa con dos isoformas (López y López, 2013).

El Se es análogo del S; lo cual, quiere decir que tiene muchas similitudes en sus propiedades físico-químicas (valencias, tamaños atómicos, bandas energéticas, potenciales de ionización, afinidades electrónicas, etc.) aunque difiere en algunas propiedades (se metaboliza a estados más reducidos y presenta mayor acidez al interactuar con el Hidrógeno), lo que confiere a los compuestos de Se mayor eficacia como agentes antitumorales frente a sus análogos Sulfurados (Aboul, 2005).

5.1.6. Selenio en la reproducción

La reproducción es una actividad metabólicamente exigente para la producción animal; lo anterior, debido a que involucra aspectos fisiológicos y de manejo encaminados a lograr la eficiencia reproductiva en la conservación de las especies (Blache *et al.*, 2008).

Con el objetivo de mejora en la eficiencia reproductiva, diversos estudios han comprobado una estrecha relación entre nutrición y reproducción. En este ámbito han observado que dietas combinadas con alguna fuente de Se mejora parámetros productivos y reproductivos (Almeida *et al.*, 2007).

El efecto del Se, específicamente la deficiencia en gallinas de postura, reduce la producción de huevo y la incubación. En vacas, existe mortalidad embrionaria alta, al igual que retención placentaria. Mientras que en ovejas, solo se ha reportado retención placentaria y; en cerdas, metritis

agaláctica. Estas alteraciones pueden contrarrestarse al suministrar 0.1 ppm de **Se**; no obstante, la dosis a proporcionar depende de la especie animal, edad, etapa reproductiva y del contenido de **Se** en la dieta.

Otros de los beneficios atribuidos al **Se** incluyen: mejora en la tasa de concepción en el primer servicio en cabras y ovejas. Mientras que, en vacas lecheras, se asocia con aumento en la concentración sanguínea y tisular de la actividad de Glutación Peroxidasa. En una investigación realizada por Vázquez *et al.* (2017), el efecto inmediato (a nueve días de su aplicación) del **Se** en la actividad ovárica fue el aumento en número de folículos pequeños y de cuerpos lúteos. Mientras que su efecto mediato (21 días después de su aplicación) resulta en el aumento del número de folículos pequeños, folículos grandes, cuerpos lúteos y tamaño del ovario. De esta manera, se concluyó que el efecto de **Se** no solo es dependiente de la dosis sino también del tiempo disponible en el organismo.

5.2. Fotoperiodo

El anestro estacional en ovinos provocó que se desarrollaran mecanismos especializados para detectar señales ambientales que indiquen el momento correcto para la reproducción de estos animales. La señal ambiental más considerada es el fotoperiodo, por ser repetible y con poca variación entre años; por tanto, las horas luz están estrechamente relacionadas con el ciclo reproductivo anual de la oveja, especie animal que detecta la alternancia de los días y las noches del año y su duración según las estaciones y el fotoperiodo, para desencadenar la respuesta el organismo animal involucrada una compleja red neuronal a nivel central que tiene la capacidad de transformar la señal luminosa (luz) en señal química (hormona), a través de la síntesis y secreción de Melatonina (Barrell *et al.*, 2000).

De manera general, la respuesta fisiológica al fotoperiodo se regula de la siguiente manera: la señal lumínica es captada por el ojo a través de la retina, señal que se convierte en señal eléctrica para ser transportada hasta el hipotálamo por medio del tracto retinohipotalámico. En el hipotálamo, el núcleo supraquiasmático capta la señal y esta pasa por núcleo paraventricular hasta el cerebro posterior (ganglio cervical superior). Lugar donde la señal eléctrica se transforma en señal química (Noradrenalina); captada por receptores alfa y beta adrenérgicos, localizados en la membrana celular de los pinealocitos, desencadenando síntesis de N-acetil-transferasa, enzima fundamental para síntesis de Melatonina. La síntesis de Melatonina tiene lugar en los pinealocitos de la glándula pineal en horas de oscuridad, a partir del aminoácido triptófano.

Cuando se presenta menor duración en la secreción de Melatonina es en días largos (mayor cantidad de luz de día); en este caso, se presenta la síntesis de Dopamina inhibiendo aquella de Melatonina; desencadenando el anestro estacional y, en el caso contrario, la Melatonina inhibe a la Dopamina y con ello se activa la estación reproductiva (Arrollo, 2011).

El efecto del **Se** es controversial y se cree que podría afectar de manera benéfica la reproducción. Por lo anterior, es pertinente continuar con el estudio del **Se** y sus efectos sobre los eventos reproductivos; lo anterior, tanto en época reproductiva como de anestro estacional.

5.2.1. Anestro estacional

La estacionalidad reproductiva se considera un proceso de selección natural, como mecanismo de adaptación desarrollado por mamíferos, entre ellos los ovinos. Este tiene la finalidad de contrarrestar el impacto negativo de factores ambientales como temperatura, humedad y disponibilidad de alimento, asegurando un ambiente confortable y seguro para la sobrevivencia de las crías; por ello, los partos se presentan en la época más favorable del año.

Anualmente, los ovinos presentan dos etapas fisiológicas (Figura 4) bien definidas y reguladas principalmente por el fotoperiodo. La primera, conocida como fase de anestro estacional, está regida por una menor secreción de Melatonina y ausencia o disminución de ciclos estrales normales, receptividad sexual y ovulación. Esta etapa también afecta al macho; en estos, cesa o disminuye la espermatogénesis y la libido. La segunda fase corresponde a la época reproductiva; en ella, se registra aumento en secreción de Melatonina, secreción adecuada de hormonas gonadotropicas y esteroideas, ciclos estrales normales, presencia de estro y ovulación. En el macho se restablece la espermatogénesis y la actividad sexual (Arrollo, 2011).

En zonas ecuatoriales (< a 35°), los ovinos no presentan de forma significativa anestro estacional; por lo tanto, los partos pueden presentarse en cualquier época del año (Arroyo *et al.*, 2009).

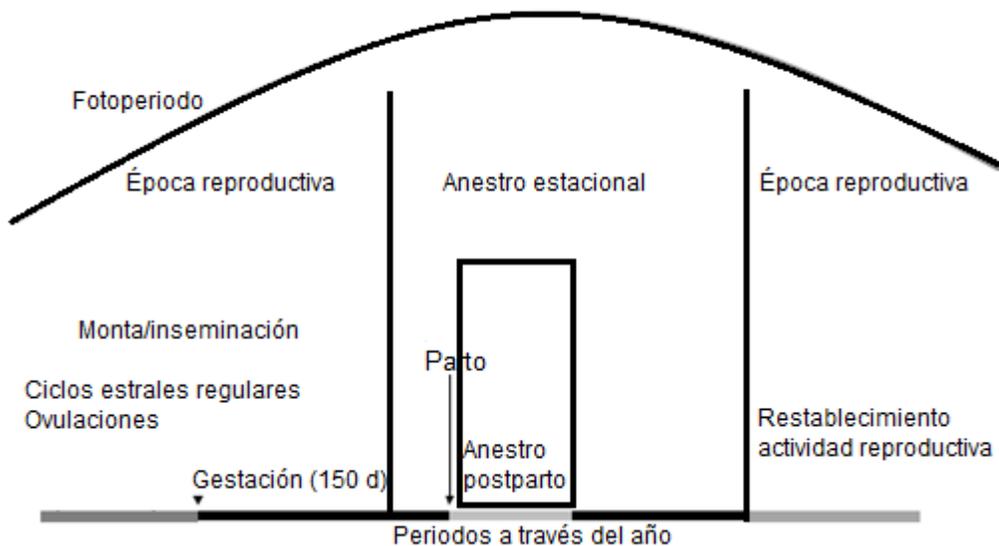


Figura 4. Época reproductiva y anestro estacional de ovinos en latitudes >35° (Arroyo *et al.*, 2009).

5.3. Características del ovario

Los ovarios están ubicados en la región lumbar de la cavidad abdominal, suspendidos por el mesovario y protegidos por el peritoneo (Frandsen *et al.*, 2009).

En mamíferos, estos son órganos dinámicos y reactivos a cambios estacionales, que contienen folículos en diferentes estadios. Los folículos ováricos presentan desarrollo escalonado, desde folículos primordiales hasta antrales y preovulatorios. Entre los folículos que inician desarrollo, la mayoría terminará en atresia antes de volverse antrales; de los cuales, solo unos cuantos alcanzan la fase ovulatoria con la posterior formación de un cuerpo lúteo.

Las hormonas gonadotrópicas folículo estimulantes (FSH) y hormona luteinizante (LH), son de vital importancia en la foliculogénesis. Un incremento hipofisario de estas hormonas es necesario para iniciar procesos celulares y moleculares en los folículos ováricos (Chen *et al.*, 2016).

El tamaño que puede tener el ovario sano es variable en hembras de la misma especie y depende de la edad, etapa reproductiva de la hembra y de la actividad folicular.

5.3.1. Folículos

Los folículos son pequeñas estructuras asociadas con células somáticas especializadas (Flores *et al.*, 2005), localizadas en la corteza ovárica, que sirven de cobijo y nutrición para la célula germinal (ovocito).

En el proceso normal de desarrollo folicular, existen diversos estadios de maduración: folículos primordiales, primarios, secundarios y antrales. El antígeno de proliferación celular (PCNA) es estimulado por la administración de **Se** en ratas, este antígeno favorece el desarrollo folicular estimulando el crecimiento de células de la granulosa y teca, esto permite el desarrollo de células y folículos sanos y viables (Gülşen *et al.*, 2013).

Los folículos se encuentran integrados por células de teca o estromales en las que se localizan ramas de vasculatura. En la teca se sintetiza la testosterona, sustrato hormonal básico para la síntesis de estrógenos (hormonas directamente relacionadas con la conducta estral; específicamente E₂); la cual, se lleva a cabo en la capa celular folicular llamada granulosa y donde ambas capas se encuentran separadas entre sí por la membrana basal. Dentro de los folículos se encuentran los ovocitos; mismos que, por acción de las hormonas gonadotrofinas (FSH y LH) crecen, maduran y después de cierto tiempo son expulsados, en el momento de ovulación, hacia el infundíbulo ovárico para encaminarse a las trompas uterinas, donde serán fertilizados.

Los vestigios celulares que permanecen en la herida de ovulación dan origen a una nueva estructura transitoria de actividad glandular llamada cuerpo lúteo.

5.3.2. Cuerpo lúteo

El cuerpo lúteo es una estructura glandular que resulta de la transición anatómica y funcional de las células foliculares después de la ovulación. Se encuentra localizado en la corteza ovárica, es una estructura relativamente grande, si se compara con el tamaño de los folículos, que se presenta en número variado, dependiendo del número de folículos ovulados. El tiempo de vida de esta glándula depende del tiempo de duración del ciclo estral o de la gestación, siendo este último, de más larga vida. Esta glándula secreta hormonas esteroideas; principalmente P₄, la cual actuará sobre la mucosa uterina, transformándola en un tejido secretor que albergará al embrión (Frandsen *et al.*, 2009). Según Vázquez *et al.* (2017) el **Se** afecta el número de cuerpos lúteos y tamaño de ovario, indicativo de mayor número de ovulaciones y probablemente mayor secreción de P₄.

5.4. Hormonas esteroideas

Tanto E₂ como P₄ son hormonas esteroideas derivadas del colesterol; el cual, en folículos maduros, es catalizado y convertido a Pregnenolona y posteriormente a P₄ (Payne y Hales, 2004). La Pregnenolona se puede mover con facilidad a través de la célula, porque contiene dos residuos hidrofílicos que le permiten sea difundida hacia el retículo endoplásmico liso para convertirse a P₄, por medio de la enzima 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3BHSD); la cual, está involucrada en la síntesis de hormonas como cortisol, aldosterona, andrógenos y estrógenos y su deficiencia da lugar a anomalías para el desarrollo sexual y la reproducción. En células de la teca con presencia de receptores a LH, se registra transformación de P₄ a andrógenos, a través de una serie de reacciones catalíticas; de esta manera, los andrógenos se propagan a las células de la granulosa y serán transformados a estrona y E₂, por acción de la enzima Aromatasa. (Svechnikov, 2008).

De acuerdo a Gülşen *et al.* (2013), el Se estimula al PCNA, antígeno que permite el desarrollo de folículos, provocando el crecimiento de células de la granulosa y teca, esto provoca células y folículos sanos que secretan hormonas esteroideas en concentraciones deseadas.

5.4.1. Estradiol (E₂)

Es una hormona esteroide aromática sintetizada y secretada principalmente por células foliculares de la granulosa. Desempeña diferentes funciones; por ejemplo, interviene en la expresión de la conducta sexual interna y externa; presenta acción local en los folículos ováricos, favoreciendo el crecimiento de la granulosa e influye en la actividad enzimática de la 3β-Hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-HDS) enzima de intervención en la síntesis de P₄ a partir de la pregnenolona; prepara al tracto genital para el transporte espermático, fertilización y posterior implantación del embrión (Fatet *et al.*, 2011). Las células mucosas del cérvix estimuladas por el E₂ secretan Sialomucina y Sulfomucina que transforma el ambiente cervical a uno de consistencia líquida,

para facilitar el cruce de espermatozoides, otra característica del E₂ es que favorece la presencia de receptores para P₄ en ámpula e istmo uterino y esta relaja el conducto permitiendo la entrada del ovocito (Roelofs *et al.*, 2010).

El eje hipotálamo-hipófisis desarrolla un sistema de retroalimentación positiva, provocando secreción de hormonas gonadotropicas; junto con estas hormonas y otras de su familia, el E₂ es responsable de la presencia del comportamiento estral, el cual es vital en la reproducción de mamíferos (Roelofs *et al.*, 2010). El E₂ circulante se presenta durante el estro; sin embargo, en ovejas se presentan pequeños incrementos durante la fase luteal, relacionados con la síntesis y secreción de esta hormona en cuerpo lúteo y a cambios en la población folicular (Toosi *et al.*, 2010).

5.4.2. Progesterona (P₄)

Es una hormona sexual esteroide, es importante para regular una gama basta de procesos biológicos en una variedad de tejidos que poseen capacidad de respuesta a esta hormona mediante la localización y activación de receptores nucleares (Conneely *et al.*, 2002). Entre sus principales funciones están: inducción de la ovulación, facilitación de la implantación, mantenimiento de preñez, desarrollo lobular-alveolar de la glándula mamaria para producir leche, prevención de pérdida ósea. Esta hormona es sintetizada en su mayoría, por el cuerpo lúteo y en menor cantidad, por la placenta. Una vez sintetizada es liberada a torrente sanguíneo donde se une a Transcortina (globulina de unión a corticosteroides) para ser transportada hasta su órgano blanco (Al-Asmakh, 2007).

La acción de la P₄ también se da a nivel local (en cuerpo lúteo). El descubrimiento de que células lúteas expresan el receptor de P₄ condujo a la hipótesis de que P₄ media la ovulación y

luteinización. Los mecanismos por los cuales ejerce esta acción siguen siendo desconocidos. Sin embargo, algunas investigaciones apoyan la idea de que la P₄ induce la actividad proteolítica en el folículo preovulatorio de especies de primates y no primates (Al-Asmakh, 2007).

La concentración de P₄ en plasma es normalmente menos de 1.5 ng mL⁻¹ durante la fase folicular y, durante la fase lútea, se eleva a valores mayores a 10 ng mL⁻¹ (Al-Asmakh, 2007), esto se considera en términos generales, aunque en realidad se registran variaciones de concentración a lo largo del ciclo estral y también en especies de animales rumiantes de interés zootécnico (Cuadro 1).

Cuadro 1. Concentraciones plasmáticas de P₄ en hembras ovinas, caprinas y bovinas (Franco y Uribe, 2012).

Especie	Intervalos de concentración de P ₄ (ng/mL)/ días de ciclo estral				
	0 - 2	3 - 5	6 -12	13 - 16	17 - 21
Ovinos	0,5 - 1	2 - 4	5 - 7	1 - 3	
Caprinos	0,5 - 1	2 - 4	5 - 8	8	0,5 - 1
Bovinos	0,5 - 2	2	3 - 6	7 - 12	1 - 5

Franco y Uribe (2012)

5.5. Implantación

En mamíferos, la implantación del embrión en la pared celular del útero está regulada por la hormona P₄. Esta promueve la implantación mediante estimulación de enzimas responsables de la lisis de la zona pelúcida. La P₄ es básica para que se produzca la implantación; sin embargo, la lisis de la zona pelúcida no es el paso crucial en este proceso, lo que indica que otros eventos esenciales promovidos por la P₄, aún no se describen en la iniciación de la implantación. Existen trabajos de investigación que indican que el **Se** estimula el incremento de cuerpos lúteos y esto puede significar el incremento de las concentraciones de P₄, esencial para la implantación.

La P₄ también evita la contractibilidad en el miométrio durante la gestación; lo cual, se presenta por aumento del potencial de reposo y prevención de acoplamiento eléctrico entre células miometriales. En el proceso de absorción de Calcio extracelular, la P₄ provoca disminución de este mineral, necesario para las contracciones del miométrio, por la regulación negativa de la expresión de genes que codifican subunidades de canales de Calcio dependientes de voltaje. (Al-Asmakh 2007).

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Ubicación del Área de Estudio

El presente estudio se realizó en el Municipio de San Andrés Chiautla, Estado de México, durante los meses de febrero a julio. Geográficamente, se encuentra entre las coordenadas 19°32'09" y 19°36'19" latitud norte y 98°51'40" y 98°54'38" longitud oeste. El clima predominante es templado semi-seco con lluvias en verano, temperatura media anual oscila entre 11°C y 19°C, con máxima de 32°C y mínima de 6°C (EMEM, 2017)

6.2 Animales

Se utilizaron 20 ovejas adultas, de raza no definida, con edad entre dos y cuatro años, con peso vivo (PV) de 40 Kg aproximadamente y condición corporal de 2.5 a 3, en escala de 1 a 5 (Russel *et al.*, 1969). La alimentación de los animales estuvo basada en cultivos forrajeros y formulaciones comerciales que los productores de la zona acostumbran proporcionar.

Antes de iniciar la investigación, las ovejas experimentales se desparasitaron con Fenbendazol al 10% (Actuol, solución oral, cada mL contiene 100 mg de febendazol; laboratorios Senosiain S.A de C.V), según indicaciones del fabricante.

6.3 Sincronización de estros

Se realizó sincronización de estros a todas las ovejas antes de suministrar los tratamientos con **Se**. El protocolo de sincronización consistió en colocar por 14 días, esponjas CHRONOGEST® CR; las cuales, contenían 20 mg de Cronolona micronizada; al momento de retirar la esponja, se aplicaron 400 U.I. de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) (Folligon®). Se inseminó a las ovejas 55 horas después del retiro de las esponjas, mediante el método de endoscopia abdominal.

6.4 Tratamientos con Selenio

Veinte ovejas se designaron de manera aleatoria a cuatro tratamientos. Los tratamientos fueron los siguientes.

T1: Testigo, n=5, ovejas a las cuales no se les otorgo **Se**.

T2: n=5 ovejas con Selenito de Sodio (Na_2SO_3)

T3: n=5 ovejas con **Se** en levadura, proporcionada directamente en el hocico de cada animal.

T4: n=5 ovejas con **Se** en levadura; encapsulada en partículas a base de Alginato de Sodio.

La dosis oral de **Se** aplicada por animal fue de 0.3 ppm, en su respectiva fuente. Para asegurar el consumo de cada dosis, estas se prepararon en sobres individuales y se depositaron directamente en la boca de cada animal.

El **Se** se proporcionó por cinco días consecutivos, iniciando seis días antes de la inseminación artificial y terminando un día antes de la misma.

6.5 Toma de Muestras Sanguíneas

Con el objetivo de determinar la concentración sérica de E_2 y, con ello conocer de manera indirecta las características secretoras y salud de la población folicular y, con potencial de síntesis y

secreción de estrógenos en respuesta a la aplicación de E₂, se tomaron muestras sanguíneas de la vena yugular en los siguientes días: -1(un día antes de IA) día 0 (día de IA) y uno, dos y tres días posteriores a la IA.

Para determinar la existencia de cuerpo lúteo y características de secreción de P₄ posterior a la aplicación de Se, se tomaron muestras los días -2, -1 y los días uno, tres, trece, veinte y veintisiete posteriores a la IA, considerando como día 0 aquél de ocurrencia de la IA.

Las muestras se colocaron en tubos de polipropileno de 15 mL; los cuales, se taparon y conservaron en refrigeración (a 4 °C) y reposo durante 24 horas para la formación de coagulo. Transcurrido este tiempo, el suero se obtuvo por centrifugación a 1,000 rpm durante 15 minutos y 5 °C de temperatura en tubos eppendorf y estos se mantuvieron congelados a -20 °C, hasta determinar la concentración de P₄ y E₂. La concentración hormonal se realizó mediante la técnica de Inmunoanálisis Quimioluminiscente de Micropartículas (Laboratorios AIMS), la sensibilidad del ensayo para P₄ fue de 0.02 ng mL⁻¹ y el coeficiente de variación intra e interensayo de 4.2% y 6%, respectivamente. Para de E₂, con sensibilidad de 8 pg mL⁻¹ y coeficiente de variación intra e interensayo de 4 y 7.8%, respectivamente.

6.6 Diagnóstico de Gestación

Para determinar la tasa de concepción durante los primeros días de gestación, se realizó diagnóstico de gestación veintiséis y treinta y cinco días post inseminación.

Los diagnósticos se realizaron con ultrasonido Draminski®, modelo 4 Vet-mini con transductor cóncavo de 7.5 MHZ, las ovejas fueron dietadas 12 horas antes de realizar el ultrasonido. La exploración se hizo a través de la pared abdominal pegada a la ubre y dirigida hacia arriba y atrás

de las vértebras coxales; de esta manera, el transductor fue colocado buscando detectar las estructuras embrionarias que indicarán gestación.

6.7 Variables evaluadas

Incluyeron:

a). Concentración sérica de E₂. El periodo incluyó del último día de tratamiento con **Se** y hasta tres días posteriores a la inseminación artificial (tiempo de última onda folicular, ovulación e inicio de luteinización).

b). Concentración sérica de P₄. El periodo evaluado incluyó desde el retiro de la esponja con contenido del análogo de P₄ hasta veintisiete días post-IA y de forma no consecutiva.

c). Tasa de concepción (%TC) se obtuvo utilizando la fórmula:

$$\% \text{ TC} = \text{número de ovejas detectadas gestantes} / \text{número de ovejas expuestas} \times 100.$$

Donde: %TC= Porcentaje de concepciones.

d). Porcentaje de prolificidad. Se obtuvo mediante la siguiente formula: %P = número de corderos nacidos/número de ovejas paridas.

Donde: %P= Porcentaje de prolificidad

c). Peso de los corderos al nacimiento por camada. Se obtuvo los pesos de cada cordero al momento de su nacimiento.

6.8 Diseño experimental

El diseño empleado fue Completamente al Azar con cuatro tratamientos y cinco repeticiones (un animal como unidad experimental y repetición), el primero como efecto fijo y el segundo como

efecto aleatorio.

6.9 Análisis estadístico

Para el análisis de datos de P₄ y E₂ se utilizó el Modelo Mixto Lineal:

$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + P_k + (t * P) + \epsilon_{ijk}$, donde:

Y_{ijk} = valor de P₄ o E₂ para cada tratamiento,

i = tratamiento ($i=1,4$),

j = repetición oveja ($j=1, \dots, 20$),

k = tiempo (número de mediciones en el tiempo),

μ = media general,

τ_i = efecto del k -ésimo tratamiento,

P_k = efecto de k -ésimo periodo,

$(t * P)$ = interacción tratamiento por periodo,

ϵ_{ijk} = error aleatorio asociado en la k -ésima medida repetida dentro del j -ésimo animal. Los modelos fueron ajustados usando el paquete estadístico SAS.

VII. RESULTADOS Y DUSCUSIÓN

7.1 Estradiol

El efecto de tratamiento no fue significativo ($P \geq 0.2391$) sobre la concentración sérica media de E₂. Por otro lado, el efecto sobre el día de medición y la interacción tratamiento por día de

medición, sí afectaron esta variable a niveles altamente significativos ($P \leq 0.0078$ y $P \leq 0.0201$, respectivamente).

No se observaron diferencias significativas (≥ 0.05) al comparar la media de T1 (Testigo) con la media conjunta de todos los tratamientos que incluyeron al Se (T2, T3 y T4); lo anterior, en ninguno de los cinco días de medición, lo cual indica que sin importar la fuente de Se, este no afecta la concentración sérica de E₂ (Cuadro 2). Los resultados muestran que la aplicación de Se no influyó la concentración sérica de E₂.

Cuadro 2. Contraste entre concentración sérica (pg/mL) de E₂ para diversos tratamientos de adición de Selenio, a dosis de 0.3 ppm, durante cinco días consecutivos anteriores a la IA en ovejas con anestro estacional.

Día	T1	Vs.	(T2+ T3 + T4)/3	P > F
----- Media \pm Error estándar -----				
-1	9.4 \pm 0.5244		9.4001 \pm 0.3028	1.0000
0	9.0 \pm 0.4359		9.1334 \pm 0.2517	0.7945
1	9.8 \pm 0.8485		10.7998 \pm 0.4899	0.3226
2	14.4 \pm 1.7649		11.9332 \pm 1.0190	0.2437
3	9.0 \pm 1.2570		10.0000 \pm 0.7257	0.5007

Días de muestreo sanguíneo para determinación de E₂: -1 (un día antes de IA), día 0 (día de IA) y uno, dos y tres días consecutivos posteriores a la IA.

Sin embargo, al realizar la comparación entre la media considerando únicamente los tratamientos con Se el T2 (inorgánico) contra T3 y T4 (Se orgánico), se observaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) únicamente para los días uno y dos (Cuadro 3; $P = 0.0107$ y $P = 0.00587$, respectivamente).

Cuadro 3. Contraste entre concentración sérica (pg/mL) de E₂ en ovejas en anestro estacional, tratadas con fuente inorgánica u orgánica de Se, para cada día de muestreo.

Día	T2	Vs.	(T3 + T4)/2	P > F
----- Media ± Error estándar-----				
-1	9.0000 ± 0.5244		9.6000± 0.3708	0.3641
0	9.0000 ± 0.4359		9.2000 ± 0.3082	0.7129
1	12.8000 ± 0.8485		9.8000 ± 0.6000	0.0107
2	9.0000 ± 1.7649		13.4000 ± 1.2480	0.0587
3	9.0000 ± 1.2570		10.5000 ± 0.8888	0.3444

Día= Días de muestreo sanguíneo para determinación de E₂: -1 (un día antes de IA), día 0 (día de IA) y uno, dos y tres días consecutivos posteriores a la IA; T2=Se de Sodio; T3=Se en levadura; T4= Se en levadura y encapsulado.

El pico del tratamiento que adiciona Selenito de Sodio en la dieta (T2) en el día uno (Figura 1), puede ser resultado de la aparición de folículos estrogénicos poco tiempo después de suspender la adición de Selenio en esta presentación. Asimismo, este pico refleja la pronta maduración folicular.

Por otro lado, el pico de elevación por la adición de Se mediante levadura sin encapsular (T3) en el día 2 (Figura 5) expresa el retardo de un día en la maduración folicular, mismo que puede resultar benéfico para el desarrollo del folículo y del mismo oocito. El tipo y presentación de Se a los animales tiene efecto (un día) sobre el momento (aceleración o retardo) en el aumento en concentración de E₂ y al considerar esta hormona como marcador de funcionalidad folicular se puede hipotetizar que la adición y asimilación efectiva del **Se** en la dieta favorece el crecimiento de folículos de forma diferencial.

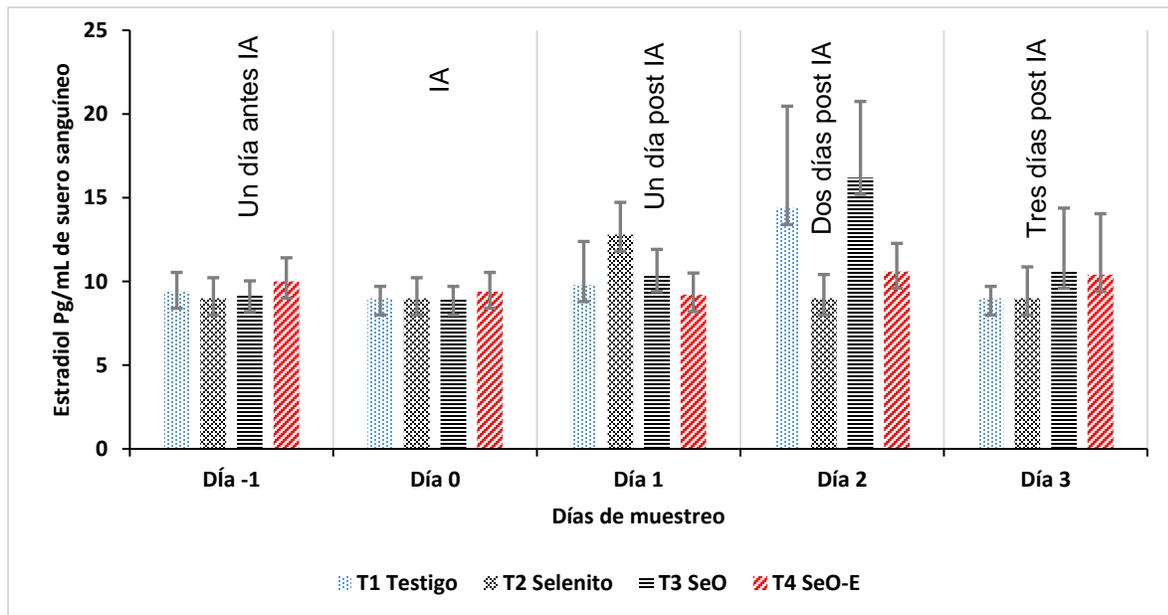


Figura 5. Concentración sérica de estradiol en ovejas en anestro estacional que recibieron dosis oral (0.3 ppm) de tres diferentes fuentes de **Se**, durante cinco días consecutivos anteriores a la IA. T1= Testigo, sin Se; T2= Selenito de Sodio (inorgánico); T3= Se en levadura (orgánico); T4= Se en levadura y encapsulado (orgánico).

Según Gülşen *et al.* (2013), el tratamiento de ratas con **Se** estimula la producción de PCNA. Este antígeno favorece el desarrollo folicular, estimulando el crecimiento de células de la granulosa y teca, lo que permite la presencia de células y folículos antrales sanos y viables para realizar su función; lo cual, explica en parte la diferencia estadística obtenida al comparar el T2 (Se inorgánico) con la media de T3 y T4 (fuente orgánica) en el día dos ($P= 0.0587$), donde la elevación de la concentración de E_2 fue posible por la presencia de células de la granulosa y teca, posiblemente en mayor proporción y funcionales.

Por otro lado, el factor de diferenciación de crecimiento 9 (GDF-9), responsable del crecimiento y diferenciación de células de la granulosa en el periodo folicular (McGrath *et al.*, 2015), es estimulado por la presencia de **Se** en el organismo de la rata (Gülşen *et al.*, 2013). Este estimula la

proliferación de células de la granulosa y es posible que esté relacionado con la concentración sérica de E₂ que se presentó en el día dos en los tratamientos con **Se** en levadura y **Se** en levadura encapsulada. Basini y Tamanini (2000), demostraron que el **Se** aumenta la supervivencia y capacidad de crecimiento de las células de la granulosa en folículos pequeños y beneficia la actividad de FSH sobre las mismas células.

Por otra parte, el Glutatión participa en la eliminación de peróxidos tóxicos y presenta acción eficaz en la protección de las proteínas intracelulares, su concentración aumenta en animales tratados con **Se**, al igual que aumentan la PCNA y GDF-9, lo que posibilitaría incrementos en la concentración de E₂.

La diferencia casi significativa ($P = 0.0587$) que se presenta el día cuatro debido al pronunciado pico de E₂ en las medias de T3 y T4 (**Se** orgánico; Cuadro 3), pudo beneficiar al desempeño reproductivo de las ovejas, ya que este esteroide favorece el crecimiento de células de la granulosa (Fortune, 2003); similarmente, estimula cambios en el tracto genital permitiendo el transporte de espermatozoides, fertilización y posterior implantación del embrión (Fatet *et al.*, 2011), así como la expresión de receptores para P₄ en ámpula e istmo uterino (Ribeiro *et al.*, 2007).

La revisión bibliográfica indicó que no existen investigaciones donde se comparen las dos fuentes de **Se** orgánicas (T3 y T4), como la efectuada en la presente investigación; la cual, resultó significativa ($P = \leq 0.0394$) a favor del T3 (**Se** orgánico sin encapsular) el día dos post IA (Cuadro 4); lo anterior, hace innecesaria la dosificación y el proceso de producción de **Se** encapsulado. Esto está relacionado con el mayor número de gestaciones obtenidas en T3 con 100%, en comparación con T4, con 60%. Sin embargo, debido a los límites presupuestales, se requiere

incrementar el tamaño de muestra para fortalecer este tipo de postulados incrementando la certidumbre de su repetibilidad.

Cuadro 4. Contraste para concentración sérica (pg/mL) de E₂, a diferente día de muestreo, en ovejitas en anestro estacional tratadas con dos Selenio orgánico con y sin encapsular.

Día	T3	Vs.	T4	P > F
----- Media ± Error estándar -----				
-1	9.2000 ± 0.5244		10.0000 ± 0.5244	0.2967
0	9.0000 ± 0.4359		9.4000 ± 0.4359	0.5256
1	10.4000 ± 0.8485		9.2000 ± 0.8485	0.3322
2	16.2000 ± 1.7649		10.6000 ± 0.7649	0.0394
3	10.6000 ± 1.2570		10.4000 ± 1.2570	0.9118

Días de muestreo sanguíneo para determinación de E₂: -1 (un día antes de IA), día 0 (día de IA) y uno, dos y tres días consecutivos posteriores a la IA. Los animales experimentales en anestro estacional, recibieron dosis oral (0.3 ppm) de Se de tres diferentes fuentes, durante cinco días consecutivos anteriores a la IA. T3: Se en levadura, T4: Se en levadura; encapsulada en partículas a base de Alginato de Sodio.

7.2 Progesterona (P₄)

El efecto del tratamiento no fue significativo ($\leq P=0.2142$) sobre la concentración sérica de P₄. En cambio, los efectos del día de medición e interacción tratamiento por día afectaron la concentración sérica de P₄ a nivel altamente significativo ($P<0.0001$)

Al comparar al testigo T1 con la adición de Se en cualquiera de sus formas (T2, T3 y T4), las diferencias fueron altamente significativas dos y un día antes de la IA ($P\leq 0.0041$ y $P\leq 0.0024$, respectivamente); en tanto que en el día 27, la diferencia tendió a la significancia ($P\geq 0.0733$; Cuadro 5). Al igual que en E₂, esto se debió a que alguna de las fuentes de Se tuvo menor efecto

(Selenito de Sodio) respecto a las otras dos fuentes orgánicas de Se encapsulado o no encapsulado (Figura 6)

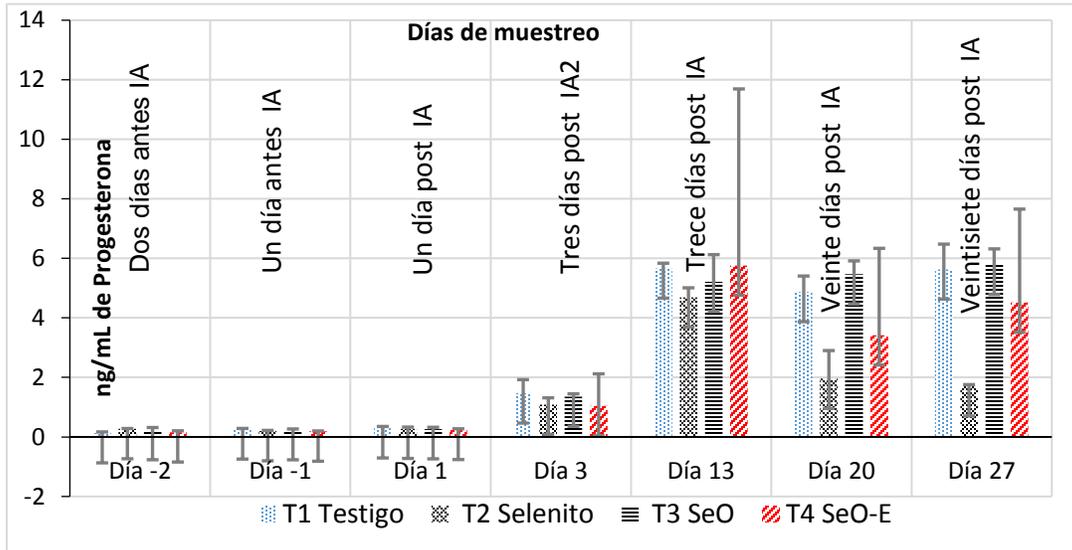


Figura 6. Concentraciones séricas de progesterona a diferentes días del tratamiento en ovejas en anestro estacional con dosis oral (0.3 ppm) de Se de tres diferentes fuentes. T1: Testigo, T2: selenito de sodio (Na_2SO_3), T3: Se en levadura, T4: Se en levadura; encapsulada en partículas a base de alginato de sodio.

Cuadro 5. Contraste para la concentración sérica (ng/mL) de P₄ entre el testigo T1 (Sin Selenio) y diferentes fuentes de Selenio T2 (Selenito de Sodio), T3 (Selenio en levadura) y T4 (Selenio en levadura y encapsulado) en ovejas con anestro estacional.

Día	T1 Vs. (T2 + T3 + T4)/3		P > F
	----- Media ± Error estándar -----		
-2	0.1300 ± 0.0233	0.2200 ± 0.0135	0.0041
-1	0.2560 ± 0.0124	0.2047 ± 0.0071	0.0024
1	0.2940 ± 0.0236	0.2607 ± 0.0136	0.2388
3	1.4660 ± 0.2676	1.1633 ± 0.1545	0.3419
13	5.6640 ± 1.3441	5.2221 ± 0.7760	0.7795
20	4.8720 ± 0.7037	3.6140 ± 0.4063	0.1411
27	5.6320 ± 0.7369	4.0007 ± 0.4255	0.0733

Días de muestreo sanguíneo para determinación de concentración sanguínea de P₄: -2 (dos días antes de IA), -1 (un día antes de IA) y los días uno, tres, 13, 20 y 27 posteriores a la IA. Ovejas en anestro estacional recibieron dosis oral (0.3 ppm) de S en tres diferentes fuentes, durante cinco días consecutivos anteriores a la IA.

La comparación de la concentración de P₄ sérico entre Se inorgánico (T2) con la media conjunta de Se orgánico (T3 y T4) mostró diferencia estadística significativa a dos y un día antes de realizar la IA ($P \leq 0.0006$ y $P \leq 0.0154$, respectivamente) con tendencia a la significancia en el día veintisiete ($P = 0.0528$; Cuadro 6).

La concentración sérica de P₄ está relacionada con el desarrollo y funcionalidad del cuerpo lúteo (Franco y Uribe, 2012). De acuerdo a Vázquez *et al.* (2017), el Se aumenta el número de cuerpos lúteos y tamaño del ovario, lo cual es indicativo de mayor número de ovulaciones. En la presente investigación se presentó mayor concentración sérica de P₄, favorablemente y mediante la aplicación de Se orgánico en ambas formas (T3 y T4) un día antes de realizar la IA ($P \leq 0.0154$);

en tanto, tal diferencia tendió a la significancia el día veinte ($P \leq 0.0528$). Esto pudo deberse a la presencia de mayor número de cuerpos lúteos inducidos por **Se** orgánico.

La alta concentración sérica de E_2 a dos y tres días posteriores a la IA en ovejas tratadas con **Se** orgánico, se puede asociar de manera positiva a su ovulación, pues hubo mayor concentración de P_4 los días -1 y 27 (Cuadro 6) y, es sabido que el E_2 retroalimenta de manera positiva a las hormonas gonadotrópicas, llevando al pulso de LH que provocó ovulaciones y un posterior cuerpo lúteo vigoroso que secretó mayores cantidades y concentraciones de P_4 .

Cuadro 6. Contraste entre la concentración sérica (ng/mL) media de P_4 Selenito de Sodio (T2) y la media conjunta de Selenio en levadura (T3) y Selenio en levadura encapsulada (T4), por cada día de muestreo en ovejas en anestro estacional.

Día	T2	Vs.	(T3 + T4)/2	P > F
----- Media \pm Error estándar -----				
-2	0.2680 \pm 0.0233		0.1960 \pm 0.0165	0.0006
-1	0.1980 \pm 0.0124		0.2080 \pm 0.0087	0.0154
1	0.2780 \pm 0.0236		0.2520 \pm 0.0167	0.4376
3	1.0900 \pm 0.2676		1.2000 \pm 0.1892	0.4710
13	4.6920 \pm 1.3441		5.4870 \pm 0.9504	0.6711
20	1.9580 \pm 0.7037		4.4420 \pm 0.4976	0.1975
27	1.7040 \pm 0.7369		5.1490 \pm 0.5211	0.0528

Días de muestreo sanguíneo para determinación de P_4 : -2 (dos días antes de IA), -1 (un día antes de IA) y los días uno, tres, trece, veinte y veintisiete posteriores a la IA. Ovejas en anestro estacional con suplementación de **Se** en tres diferentes fuentes, durante cinco días consecutivos anteriores a la IA.

Al comparar la suplementación con Selenio en levadura (T3) con Se en levadura encapsulada (T4) se presentaron diferencias significativas para dos y un día antes de la IA ($P \leq 0.0349$ y $P \leq 0.0143$, respectivamente) y, para el día 20, se observó fuerte tendencia a la significancia ($P \geq 0.0559$; Cuadro 7). Esta concentración sérica al día veinte puede resultar en la mayor frecuencia observada de gestaciones con la suplementación de Se en levadura sin encapsular (T3).

Cuadro 7. Contraste entre la concentración sérica (ng/mL) media de P₄ con suplementación de Selenio en levadura (T3) y aquella observada con suplementación de Selenio en levadura encapsulada (T4), por cada día de muestreo realizado a ovejas estabuladas y en anestro estacional.

Día	T3	Vs.	T4	P > F
----- Media ± Error estándar -----				
-2	0.2340 ± 0.0233		0.1580 ± 0.0233	0.0349
-1	0.2320 ± 0.0124		0.1840 ± 0.0124	0.0143
1	0.2640 ± 0.0236		0.2400 ± 0.0236	0.4823
3	1.3580 ± 0.2676		1.0420 ± 0.2676	0.4160
13	5.2120 ± 1.3441		5.7620 ± 1.3441	0.7760
20	5.4680 ± 0.7037		3.4160 ± 0.7037	0.0559
27	5.7840 ± 0.7369		4.5140 ± 0.7369	0.2407

Días de muestreo sanguíneo para determinación sérica de la concentración de P₄: -2 (dos días antes de IA), -1 (un día antes de IA) y los días uno, tres, trece, veinte y veintisiete posteriores a la IA. Ovejas en anestro estacional recibieron dosis oral (0.3 ppm) de Se durante cinco días consecutivos anteriores a la IA.

7.3 Prolificidad

La prolificidad es el porcentaje de crías nacidas en relación con el total de hembras paridas. El efecto de la adición de Se no fue significativo ($P \geq 0.0872$) para esta variable; sin embargo, se

observó una diferencia numérica alta para ambos tratamientos con Se orgánico (T3 y T4) al comparar con la suplementación con Se inorgánico (T2, Figura 7). Los resultados estadísticos indican que ninguna de las fuentes de Se afecta la prolificidad en el periodo de anestro estacional, estos resultados concuerdan con lo reportado por Fraire *et al.* (2013), donde aplicaron Se y vitamina E a ovejas sin encontrar diferencias.

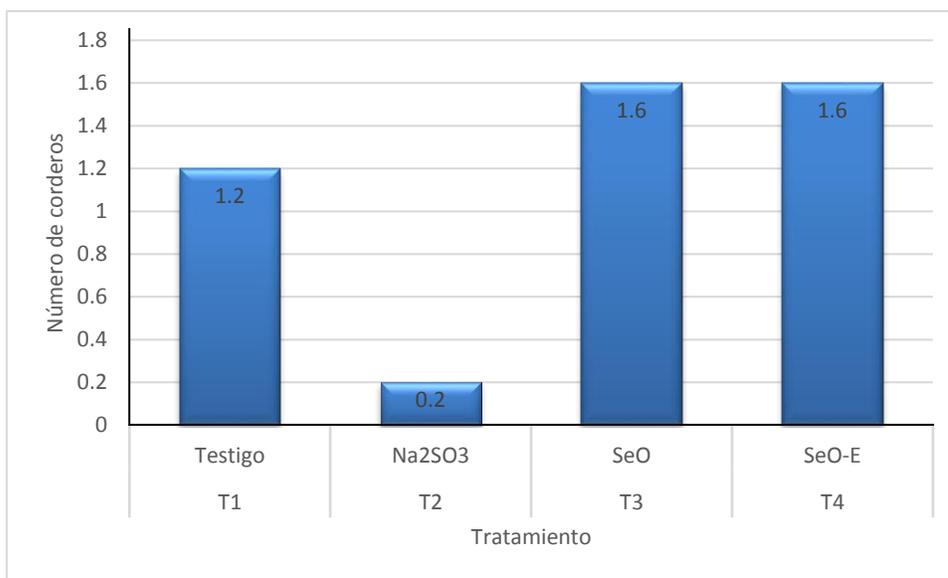


Figura 7. Prolificidad de las ovejas por tratamiento con Se. Ovejas en anestro estacional recibieron dosis oral (0.3 ppm) de Se en tres diferentes fuentes, durante cinco días consecutivos anteriores a la IA.

7.4 Tasa de concepción

El efecto de tratamientos no mostró diferencias significativas ($P \geq 0.1037$) en la tasa de concepción, resultados que proporcionan evidencian que la adición de Se en la dieta no afecta la preñez, estos resultados coinciden con lo reportado por Fraire *et al.* (2013), donde no se presentó diferencia al aplicar Se y vitamina E a ovejas; sin embargo, contrastan con los encontrados por Alonso *et al.* (2009), donde el Selenito de Sodio mostró mayor tasa de gestación en vacas. Esto se pudo presentar

por diferencias en forma y dosis de tratamiento, así como a diferencias en condiciones climáticas y grado de estrés oxidativo al que están expuestos los animales.

Los resultados encontrados en la actual investigación mostraron una diferencia numérica considerable (Figura 8), demostrando que el Se orgánico puede influir la preñez. Debido a que en esta investigación se cuenta con pocas repeticiones por tratamiento esto pudo ser influyente en el nivel de significancia alcanzada mediante los análisis estadísticos.

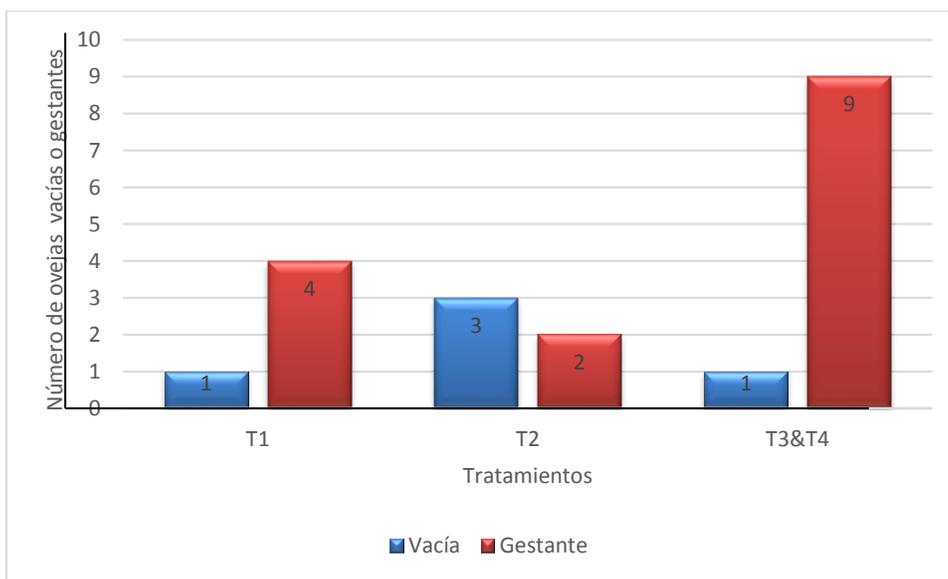


Figura 8. Número de hembras gestantes o vacías (Tasa de concepción) por tratamientos con Se. Ovejas en anestro estacional recibieron dosis oral (0.3 ppm) de Se en tres diferentes fuentes, durante cinco días consecutivos anteriores a la IA

7.5 Peso de los corderos al nacimiento por camada

Los resultados registrados muestran diferencias numéricas amplias (Figura 9); sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($P \geq 0.0783$). Estos resultados pueden estar influenciados por el bajo tamaño de muestra y, por tanto, escaso número de repeticiones por

tratamiento; sin embargo, muestran tendencia a la significancia y coinciden con lo reportado por Paraguirre *et al.*, (2015), donde de igual manera el **Se** no influyó en el peso de los corderos al nacimiento.

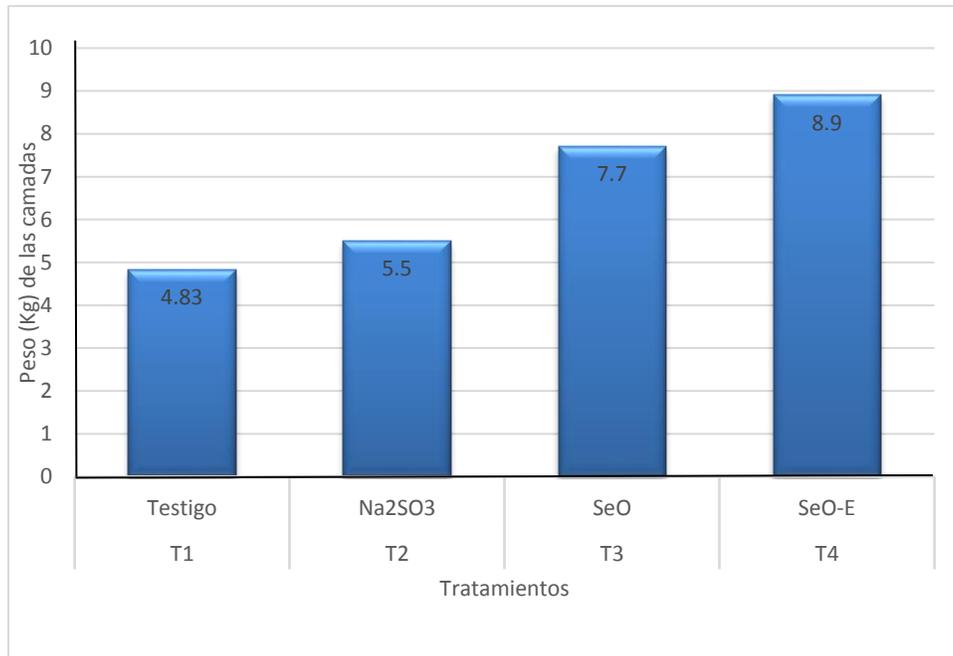


Figura 9. Peso al nacimiento de corderos por camada por tratamiento con **Se**. Ovejas en anestro estacional recibieron dosis oral (0.3 ppm) de **Se** en tres diferentes fuentes, durante cinco días consecutivos anteriores a la IA

VIII. CONCLUSIONES

La aplicación oral de **Se** a ovejas en anestro estacional no afecta la concentración media de E_2 y P_4 séricas.

El patrón de secreción por día de E_2 y P_4 se alteró con la aplicación de **Se**.

Se observó mejor respuesta en ovejas que recibieron **Se** orgánico no encapsulado y en levadura sin encapsular.

Respecto al resto de parámetros el **Se** no los afectó.

IX. LITERATURA CITADA

- About-Fadl, T. (2005). Selenium derivatives as cancer preventive agents. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*. 5(6), 637-652.
- Almeida, A. M., Schwalbach, L. M. J., Cardoso, L. A., & Greyling, J. P. C. (2007). Scrotal, testicular and semen characteristics of young Boer bucks fed winter veld hay: The effect of nutritional supplementation. *Small Ruminant Research*. 73(1), 216-220.
- Al-Asmakh, M. (2007). Reproductive functions of progesterone. *Middle East Fertility Society Journal*. 12(3), 147-152.
- Alonso, L., Juárez R., Aréchiga C.F.F., Morales R.S., Gutiérrez G.C. and Hernández C.J. 2009. Insidencia de patologías uterinas en vacas Holstein tratadas con selenio y vitamina E antes y después del parto. *Medicina Veterinaria*. 40 (2), 133-40.
- Aréchiga, C. F., Aguilera, J. I., Rincón, R. M., Méndez de Lara, S., Bañuelos, V. R., & Meza-Herrera, C. A. (2008). Situación actual y perspectivas de la producción caprina ante el reto de la globalización. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 9(1), 1-14
- Arrollo, J. (2011). Estacionalidad reproductiva de la oveja en México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 14, 829-845.
- Arroyo, J., Magaña S.H. and Camacho E.M.A. 2009. Regulación neuroendocrina del anestro posparto en la oveja. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 10, 301-12.
- Barrell, G.K., Thrun L.A., Brown M.E., Viguié C., and Karsch F.J. (2000). Importance of photoperiodic signal quality to entrainment of the circannual reproductive rhythm of the ewe. *Biology of Reproduction*. 63, 769-774.

- Basini, G., & Tamanini, C. (2000). Selenium stimulates estradiol production in bovine granulosa cells: possible involvement of nitric oxide. *Domestic Animal Endocrinology*, 18(1), 1-17.
- Blache, D., Maloney, S. K., & Revell, D. K. (2008). Use and limitations of alternative feed resources to sustain and improve reproductive performance in sheep and goats. *Animal Feed Science and Technology*, 147(1), 140-157.
- Chumpitaz, C. C. (2011). El selenio, un elemento poco conocido con un rol biológico importante. *Revista de Química*, 25(1-2), 29-33.
- Cardey, B., & Enescu, M. (2007). Selenocysteine versus cysteine reactivity: a theoretical study of their oxidation by hydrogen peroxide. *The Journal of Physical Chemistry A*, 111(4), 673-678.
- Cerri, R. L., Rutigliano, H. M., Lima, F. S., Araújo, D. B., & Santos, J. E. (2009). Effect of source of supplemental selenium on uterine health and embryo quality in high-producing dairy cows. *Theriogenology*, 71(7), 1127-1137.
- Chen, F., Wang, N., Yang, D., Wen, X., Mahmoud, T. N., Zhou, D., & Jin, Y. (2016). Herp depletion arrests the S phase of the cell cycle and increases estradiol synthesis in mouse granulosa cells. *Journal of Reproduction and Development*, 62(2), 159-166.
- Conneely, O. M., Mulac-Jericevic, B., Demayo, F., Lydon, J. P., & O Malley, B. W. (2002). Reproductive functions of progesterone receptors. *Recent Progress in Hormone Research*, 57, 339-356.
- EMDM (2017) Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México. Consultado en internet en octubre de 2017). <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM15mexico/municipios/15028a.html>

- Fatet, A., Pellicer-Rubio, M. T., & Leboeuf, B. (2011). Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science*, 124(3), 211-219.
- Flores, P.F.I., Velasco R. C., Romano P.M.C. and Martínez P. M. (2005). Apoptosis y atresia folicular: Un binomio esencial en el desarrollo ovárico. *Veterinaria México*. 1(36), 87-103.
- Fortune, J. E. (2003). The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Animal Reproduction Science*. 78(3), 135-163.
- Fraire-Cordero, S., Pró-Martínez, A., Ramírez-Valverde, G., Sánchez-del Real, C., & Gallegos-Sánchez, J. (2013). Selenio y vitamina E en la fertilidad de ovejas Pelibuey sincronizadas con progesterona. *Universidad y Ciencia*. 29(1), 33-44.
- Franco, J., & Uribe Velásquez, L. F. (2012). Hormonas reproductivas de importancia veterinaria en hembras domésticas rumiantes. *Biosalud*. 11(1), 41-56.
- Frandsen, R. D., Wilke, W. L., & Fails, A. D. (2009). *Anatomy and physiology of farm animals*. John Wiley & Sons.
- Galaviz-Rodríguez, J. R., Vargas-López, S., Zaragoza-Ramírez, J. L., Bustamante-González, A., Ramírez-Bribiesca, E., Guerrero-Rodríguez, J. D. D., & Hernández Zepeda, J. S. (2011). Evaluación territorial de los sistemas de producción ovina en la región nor-poniente de Tlaxcala. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 2(1), 53-68.
- González-Garduño, R., Torres-Hernández, G., & Arece-García, J. (2010). Comportamiento productivo y reproductivo de ovinos Pelibuey en un sistema de pariciones aceleradas con tres épocas de empadre al año. *Zootecnia Tropical*. 28(1), 51-56.
- Gürgen, S. G., Erdogan, D., Elmas, Ç., Kaplanoglu, G. T., & Özer, Ç. (2013). Chemoprotective

- effect of ascorbic acid, α -tocopherol, and selenium on cyclophosphamide-induced toxicity in the rat ovarium. *Nutrition*, 29(5), 777-784.
- Hall, J. A., Van Saun, R. J., Bobe, G., Stewart, W. C., Vorachek, W. R., Mosher, W. D., & Pirelli, G. J. (2012). Organic and inorganic selenium: I. Oral bioavailability in ewes. *Journal of Animal Science*, 90(2), 568-576.
- Hefnawy, A. E., & Pérez, J. T. (2008). “Selênio e saúde animal”-importância, deficiência, suplementação e toxidez. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, 11(2), 153-165.
- López-Bellido, F. G., & López, L. B. (2013). Selenium and health; reference values and current status of Spanish population. *Nutricion Hospitalaria*. 28(5), 1396-1406.
- López-Gutiérrez, A. G., Ramírez-Bribiesca, J. E., López-Arellano, R., Revilla-Vázquez, A., Tórtora-Pérez, J., & Bárcena-Gama, J. R. (2012). Balance de selenio en corderos suplementados con selenio orgánico. *Universidad y Ciencia*. 28(2), 173-180
- MacPherson, A., & Chalmers, J. S. (1984). Methods of selenium supplementation of ruminants. *The Veterinary Record*. 115(21), 544-546.
- McGrath, S. A., Esquela, A. F., & Lee, S. J. (1995). Oocyte-specific expression of growth/differentiation factor-9. *Molecular Endocrinology*. 9(1), 131-136.
- Payne, Anita H. and Hales D.B. (2004). Overview of Steroidogenic Enzymes in the Pathway from Cholesterol to Active Steroid Hormones. *Endocrine Reviews*. 25(6), 947-970.
- Russel, A. J. F., J. M. Doney, and R. G. Gunn.1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *The Journal of Agricultural Science*, 72(3), 451-454.

- Roelofs, J., Lopez-Gatius, F., Hunter, R. H. F., Van Eerdenburg, F. J. C. M., & Hanzen, C. (2010). When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology*. 74(3), 327-344.
- Sager, M. (2006). Selenium in agriculture, food, and nutrition. *Pure and Applied Chemistry*. 78(1), 111-133.
- Schrauzer, G. N. (2001). Nutritional selenium supplements: product types, quality, and safety. *Journal of the American College of Nutrition*. 20(1), 1-4.
- Schrauzer, G. N. (2000). Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *The Journal of Nutrition*. 130(7), 1653-1656.
- Svechnikov, K., & Söder, O. (2008). Ontogeny of gonadal sex steroids. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 22(1), 95-106.
- Toosi, B. M., Seekallu, S. V., Barrett, D. M. W., Davies, K. L., Duggavathi, R., Bagu, E. T., & Rawlings, N. C. (2010). Characteristics of peaks in serum concentrations of follicle-stimulating hormone and estradiol, and follicular wave dynamics during the interovulatory interval in cyclic ewes. *Theriogenology*. 73(9), 1192-1201.
- Valdiglesias, V., Laffon B., Pásaro E., and Méndez J. (2008). Evaluación del efecto de la Selenometionina sobre la reparación del daño en el ADN. *Revista Real Academia Galega de Ciencias*. 27, 41-94.
- Valle, G. R., Cassali, G. D., Nogueira, J. C., Castro, A. C. S., Reis, A. M., Cardoso, F. M., & Nascimento, E. F. (2007). Nuclear estrogen and progesterone receptors in the oviduct of heifers under natural and superovulated estrous cycles. *Animal Reproduction Science*, 101(1), 28-37.

- Vázquez-Hernández, S.D., Miranda-Jiménez L., Segura-León O. y Quero-Carrillo A.R. (2017).
Desarrollo de folículos y cuerpo lúteo en cabras como respuesta al suministro de selenio.
Agroproductividad 10(2), 15-18.
- Viñoles, C., Banchemo, G., Quintans, G., Pérez-Clariget, R., Soca, P., Ungerfeld, R. & Meikle, A.
(2009). Estado actual de la investigación vinculada a la Producción Animal Limpia, Verde y
Ética en Uruguay. *Agrociencia*, 13(3), 59-79.
- Zhang, Y., and Vadim N.G. (2009). Comparative genomics of trace elements: Emerging dynamic
view of trace element utilization and function. *Chemical Reviews*, 109(10), 4828-4861