

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



**RESPUESTA REPRODUCTIVA DE OVEJAS NULÍPARAS EXPUESTAS A
CARNEROS TRATADOS CON SELENIO MÁS VITAMINA E**

T E S I S

Que presenta LORENA MARLENE MONTES ROSALES

**como requisito parcial para obtener el Grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA**

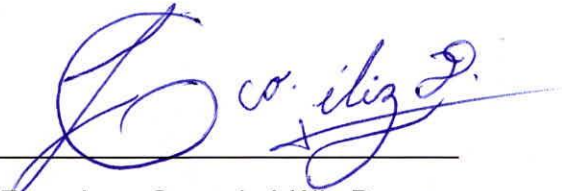
Torreón, Coahuila

Junio de 2022

RESPUESTA REPRODUCTIVA DE OVEJAS NULÍPARAS EXPUESTAS A
CARNEROS TRATADOS CON SELENIO MÁS VITAMINA E

TESIS

Elaborada por LORENA MARLENE MONTES ROSALES como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría.



Dr. Francisco Gerardo Véliz Deras
Asesor principal



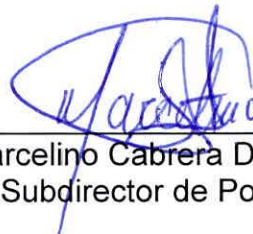
Dr. Óscar Ángel García
Asesor



Dra. Leticia R. Gaytán Alemán
Asesor



Dra. Leticia R. Gaytán Alemán
Jefe del Departamento de Postgrado



Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Subdirector de Postgrado

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi profundo agradecimiento a los directivos, profesores, secretarías y compañeros de postgrado de la UAAAN UL, quienes me permitieron seguir compartiendo mis experiencias con ellos y también aprender de sus valiosas opiniones y comentarios.

En especial, agradezco a:

Mi asesor el ***Dr. Francisco Gerardo Véliz Deras***

Por consagrarse a la ciencia y hacer de ella una forma de vida, por brindarme la oportunidad de estar en su equipo.

Dr. Óscar Ángel García

Por amar su profesión y transmitir a otros aquello que adora. Por ser un excelente investigador y al mismo tiempo una excelente persona.

Ing. José Ángel Pérez

La ciencia es trabajo, nada más y nada menos.

Agradezco también:

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna**, mi “Alma Terra Mater” por darme la oportunidad de poder terminar una licenciatura y una maestría.

Al **CONACYT** por la beca obtenida que fue de gran ayuda durante mi maestría.

DEDICATORIA

A mis padres

Sonia y Raymundo.

Estoy muy agradecida por cuanto me han ayudado y apoyado, sin ti mamá, no hubiera sido posible.

A Jesús Zúñiga, mi esposo

y mi cuerda de salvación durante esta aventura de convertirnos en padres y sacar adelante una empresa y una maestría.

A José Pablo, mi hijo:

Eres y siempre serás mi mayor logro, mi más grande amor.

A mis tres hermanos:

Ray, Jenny y Thalía.

Juntos iniciamos el camino de la vida, y después el trabajo y las obligaciones nos fueron encaminando a nuestros rumbos y destinos. Los amo.

ÍNDICE

RESUMENxi
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo	5
Hipótesis	5
REVISIÓN DE LITERATURA	6
MARCO TEÓRICO	6
CAPÍTULO 1	6
Nutrición y eficiencia reproductiva	7
CAPÍTULO 2	8
Características y disponibilidad de Se	8
Farmacocinética de Se	10
Mecanismo de acción de Se	12
Deficiencia y requerimientos de Se	13
Toxicidad de Se	15
CAPÍTULO 3	17
Características de Vit. E	17
Farmacocinética y mecanismo de acción de Vit. E	18
CAPÍTULO 4	19
Relación de Se y Vit. E	19
Se más Vit. E y espermatogénesis	22
Se más Vit. E y pubertad	23
CAPÍTULO 5	25
Efecto macho	25
Comportamiento sexual y efecto macho	26
Prueba de comportamiento sexual en machos	31
Circunferencia escrotal y eficiencia reproductiva	35
MARCO REFERENCIAL	36
CAPÍTULO 6	36
Estacionalidad reproductiva en ovinos	36
Temperatura ambiental y desempeño sexual en machos	40
CAPÍTULO 7	41
Estrés oxidativo por ROS	41

Antioxidantes	43
MATERIALES Y MÉTODOS.....	44
General.....	44
Localización del área experimental y condiciones ambientales	44
Manejo general de los animales	45
Tratamiento de los machos.....	46
Manejo de las hembras.....	46
Variables evaluadas: Efecto macho.....	47
Respuesta de comportamiento sexual en carneros.....	47
Respuesta sexual y reproductiva de ovejas	47
Análisis estadístico	49
RESULTADOS	50
DISCUSIÓN.....	54
CONCLUSIÓN	57
BIBLIOGRAFÍA.....	58

Lista de figuras

Figura 1. Efecto de la deficiencia de selenio en la ultraestructura de núcleos de espermatozoides de ratones mantenidos en dietas Selenio suficiente y deficiente (Sánchez-Gutiérrez *et al.*, 2008).

Figura 2. Flehmen (Banks, 1964).

Figura 3. Papel de la glándula pineal y de la melatonina en la reproducción (Ptaszynska y Molina, 2007, p.13).

Figura 4. Diagrama del eje de regulación neuroendocrina en el macho (tomado de Lezama *et al.*, 2017).

Figura 5. Diseño experimental.

Figura 6. Medias de A) Peso vivo (kilogramos), B) Intensidad de olor (unidades escala 0-3), C) Condición corporal (unidades escala 1-5) y D) Circunferencia escrotal (cm) (media \pm S.E.M.) medido a lo largo del tiempo de estudio en carneros Dorper (n=10; 5 por grupo experimental) tratados con selenio más vitaminas E (GT) y solución salina (GC) bajo fotoperiodo natural a 26° de latitud norte.

Figura 6. Porcentaje de ovejas que presentaron comportamiento estral a lo largo del período experimental de 34 ovejas nulíparas de la raza Dorper (n = 34; 17 por tratamiento) expuestas a carneros Dorper (n = 6, 3 por tratamiento) tratados con selenio más vitamina E (GT) y solución salina (GC) durante la temporada de descanso reproductivo bajo fotoperíodo natural a 25° latitud norte.

Lista de tablas

Tabla 1. Principales comportamientos relacionados al comportamiento sexual apetitivo (CSA), comportamiento sexual consumatorio (CSC) e indicadores de reposo sexual (IRS) de carneros. (Calderón-Leyva *et al.*, 2017)

Tabla 2. Frecuencia de comportamiento sexual apetitivo (CSA), consumatorio (CSC) y de reposo (IRS) de carneros raza Dorper (n=10) tratados con selenio más vitamina E (GT) y solución salina fisiológica (GC) y expuestos a hembras nulíparas anovulatorias de la raza Dorper (n=34) durante la temporada de descanso reproductivo bajo fotoperíodo natural a 26° latitud norte*.

Tabla 3. Respuesta sexual y reproductiva de ovejas nulíparas de raza Dorper expuestas a carneros previamente tratados con selenio más vitamina E (GT) y solución salina (GC) a 26° latitud norte bajo fotoperíodo natural. a, b, c = Los valores con diferentes literales en la misma fila difieren ($P < 0.05$).

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Significado
%	Porcentaje
° C	Grado Centígrado
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
Ag	Plata
Al	Aluminio
As	Arsénico
CAT	Catalasa
CC	Condición Corporal
Cd	Cadmio
CE	Circunferencia Escrotal
cm	Centímetro
d	Día
<i>et al</i>	Colaboradores
FDA	Food and Drug Administration
FSH	Follicle stimulating hormone – Hormona estimuladora del folículo
g	Gramos
ng	Nanogramo
GC	Grupo Control
GI	Gastrointestinal
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone – Hormona liberadora de gonadotropina
GSH-Px	Glutación Peroxidasa
GT	Grupo Tratado
h	Horas
Hg	Mercurio
ID	Intestino Delgado
IgG	Inmunoglobulina G
IM	Intramuscular
kg	Kilogramo

LDL	Low density lipoprotein – Lipoproteína de baja densidad
LH	Luteinizing Hormone – Hormona Luteinizante
m	Metro
mg	Miligramo
MHz	Megahercio
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MS	Materia Seca
n	Número de animales
N	Norte
NRC	Nuclear Regulatory Commission
P	Probabilidad
Pb	Plomo
PC	Proteína Cruda
pH	Potencial de Hidrógeno
ppm	Partes por millón
PV	Peso Vivo
ROS	Reactive Oxygen Species – Especies Reactivas de Oxígeno
Se	Selenio
SOD	Superóxido Dismutasa
UI	Unidades Internacionales
Vit. B12	Vitamina B12
Vit. E	Vitamina E
VLDL	Very low density lipoprotein – Lipoproteína de muy baja densidad
W	West – Oeste

RESUMEN

RESPUESTA REPRODUCTIVA DE OVEJAS NULÍPARAS EXPUESTAS A CARNEROS TRATADOS CON SELENIO MÁS VITAMINA E

Lorena Marlene Montes Rosales

Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna

Dr. Francisco Gerardo Véliz Deras

Se evaluó la respuesta reproductiva de ovejas Dorper nulíparas-anovulatorias expuestas a carneros tratados con selenio (Se) más vitamina E (Vit. E). Los carneros Dorper se dividieron al azar en dos grupos experimentales homogéneos (n = 5 machos cada uno) con respecto al peso vivo, condición corporal, circunferencia escrotal e intensidad de olor. Los grupos fueron tratados con: GT (1 mg de Se más 70 UI de Vit. E x kg de PV cada 7 d x 28 d, IM), GC (1 mL de solución salina, cada 7d x 28 d, IM). Posteriormente, los carneros (n=3 por grupo) fueron seleccionados y expuestos a ovejas Dorper anovulatorias-nulíparas divididas en dos grupos (n=17 ovejas cada uno), y se registraron todos los comportamientos sexuales durante las primeras 48 h. Durante las pruebas de comportamiento, los carneros no mostraron diferencias significativas ($P > 0.05$). Sin embargo, GC mostró las frecuencias más altas de comportamiento sexual apetitivo (CSA) ($P > 0.05$) en relación con el GT. En cuanto a la respuesta reproductiva de las ovejas nulíparas-anovulatorias expuestas a carneros tratados, el porcentaje de hembras en estro (82 %; $P > 0,05$) y hembras en celo y ovulando (82 % vs 76 %; $P > 0,05$) fue similar para ambos grupos de hembras expuestas a GT y GC, respectivamente. Concluimos que

el tratamiento durante 28 días con Se más Vit. E en carneros no mejoró la respuesta reproductiva en ovejas nulíparas-anovulatorias. Esto podría deberse a que la dosis y la duración de los tratamientos no fueron suficientes para estimular un alto comportamiento sexual en los carneros tratados.

Palabras clave: Actividad estral; comportamiento sexual; Dorper; efecto macho; ovinos.

ABSTRACT

REPRODUCTIVE RESPONSE OF NULLIPAROUS EWES EXPOSED TO RAMS TREATED WITH SELENIUM PLUS VITAMIN E

Lorena Marlene Montes Rosales

Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna

Dr. Francisco Gerardo Véliz Deras

We evaluated the reproductive response of Dorper nulliparous – anovulatory ewes exposed to rams treated with selenium (Se) plus vitamin E (Vit. E). Dorper rams were randomly divided into two homogeneous experimental groups (n=5 males each) regarding live weight, body condition score, scrotal circumference, and odor intensity. Groups were treated with: TG (1 mg of Se plus 70 UI Vit. E x kg of BW every 7d x 28d, IM), GC (1 mL of saline solution every 7d x 28d, IM). Thereafter, rams (n=3 per group) were selected and exposed to Dorper anovulatory-nulliparous ewes divided in two groups (n=17 ewes each), and all the sexual behaviors were registered during the first 48 h. During the behavior tests, the rams did not show significant differences ($P > 0.05$). However, GC showed the highest appetitive sexual behavior (CSA) frequencies ($P > 0.05$) in relation to TG. Regarding the reproductive response of the nulliparous - anovulatory ewes exposed to treated rams, the percentage of females in estrus (82 %; $P > 0.05$) and females showing estrus and ovulation (82 % vs 76 %; $P > 0.05$) was similar for both female groups exposed to TG and CG, respectively. We concluded that treatment for 28 days with Se plus Vit. E in rams did not improve the reproductive response in nulliparous-anovulatory

ewes. This could be because the dose and duration of the treatments were not enough to stimulate high sexual behavior in the treated rams.

Key words: Estrus cycle; sexual behavior; Dorper; male effect; sheep

INTRODUCCIÓN

El amor y el aprendizaje se parecen a que nunca son un desperdicio

Hope Jahren (2016)

Este trabajo de tesis fue desarrollada alrededor de una investigación de carácter experimental, la cual se basa en principios teóricos y empíricos de la ciencia de la nutrición con vitaminas y minerales y su efecto a nivel reproductivo en ovinos.

La elección de este tema surge, por un lado, por la necesidad de contribuir a los productores de la región, porque es nuestra misión como estudiantes de posgrado, elaborar información nueva a partir de otras investigaciones. Los ovinocultores requieren desarrollar una mayor eficiencia productiva en sus animales para mantener su competitividad ante el mundo. La producción de ovino juega un papel importante en la cadena alimenticia y en el sustento de hogares rurales, generalmente en precariedad, que habita territorios agrícolamente marginales, o bien que disponen de poca tierra, siendo este ganado parte relevante de la agricultura de subsistencia (Osinowo *et al.*, 1991).

Indudablemente, la eficiencia reproductiva es una limitante importante en la ovinocultura y el principal factor determinante para la rentabilidad en los sistemas de producción de esta especie (Dewi *et al.*, 1996; Karakus y Atmaca, 2016). La fertilidad es el factor más importante desde el punto de vista económico, y conseguir altos índices de gestación en periodos cortos es la meta de todo ovinocultor. Sin embargo, esto no ocurre si la habilidad de reproducción del macho se ve afectada (Almeida *et al.*, 2007; Singh *et al.*, 2018). La influencia de la nutrición en la

reproducción se ha investigado ampliamente. Una nutrición insuficiente retrasa el comienzo de la pubertad y la madurez sexual, ralentiza la tasa de crecimiento, que en los machos resulta en testículos de menor tamaño y, por lo tanto, baja producción de testosterona y una reducción en la producción y maduración de los espermatozoides (Arova *et al.*, 2003; Ali *et al.*, 2009; Surai y Fisinin, 2015; Mojapelo y Lehloenya, 2019). De forma general se ha concluido que la secreción de GnRH se ve reducida en animales desnutridos (Wade y Jones, 2004; Zarazaga *et al.*, 2005; Azevedo *et al.*, 2006).

Una dieta balanceada no solo consiste en el aporte de energía y proteínas, sino también, en el aporte de micronutrientes, necesitamos vitaminas y minerales. Desde el punto de vista reproductivo es importante mencionar que existen interacciones entre vitaminas y minerales que mejoran las funciones para promover una mayor eficiencia reproductiva (Ali *et al.*, 2009; Zubair *et al.*, 2015). La vitamina E (Vit. E) y el selenio (Se) son dos micronutrientes importantes que pueden afectar varios procesos biológicos, como la espermatogénesis, la calidad seminal (Marin-Guzman *et al.*, 1997; Carrillo-Nieto *et al.*, 2018), y la reproducción (Gamal *et al.*, 2013; Stefanov *et al.*, 2018). Demasiados estudios se han realizado para describir los efectos del Se y la Vit E en varias especies animales (Van y Callan, 2001; Ali *et al.*, 2009; Marzec-Wróblewska *et al.*, 2012; Carrillo-Nieto *et al.*, 2018).

Es bien sabido que cuando la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS - Reactive Species Oxygen) supera al sistema de defensa antioxidante disponible, se produce un daño oxidativo significativo conocido como estrés oxidativo (Aitken y Krausz, 2001). La administración de antioxidantes como Vit. E y Se pueden ayudar

a mejorar y aumentar la función reproductiva, gracias a que tienen una función complementaria en los sistemas antioxidantes (Gardiner y Reed, 1994). Por su parte, la vitamina E actúa como antioxidante intracelular, conservando la membrana celular de los fosfolípidos, protegiéndolos del daño oxidativo y la peroxidación (Combs, 1998; Surai, 1999).

Desde hace algunos años, se han utilizado diferentes estrategias para la inducción de la actividad reproductiva en machos y hembras de ovinos y caprinos, para lograr contrarrestar la inactividad reproductiva (Véliz *et al.*, 2006; Carrillo *et al.*, 2014; Luna-Orozco *et al.*, 2012; Ángel-García *et al.*, 2015), por ejemplo, una estrategia es el “efecto macho” (Luna-Orozco *et al.*, 2012). Bearden y Fuquay (1997) demostraron que el tratamiento con Vit E y Se conduce a un aumento del nivel de testosterona que tiene un efecto directo sobre el carácter sexual secundario. Así, para que se estimule la actividad sexual de hembras en anestro estacional, es de vital importancia el comportamiento sexual del macho y la presencia continua de machos sexualmente activos para evitar el anestro estacional (Abecia *et al.*, 2019). La intensidad del comportamiento sexual del macho, su olor y vocalizaciones estimulan la secreción de LH y la manifestación del estro en cabras anéstricas (Delgado *et al.*, 2008).

Aunque existen varios estudios que se han enfocado en los efectos potenciales de la combinación de Vit. E y Se sobre las características del semen en especies como, ovinos (Ali *et al.*, 2009; Baiomy *et al.*, 2009; Gamal *et al.*, 2013; El-Sheshtawy *et al.*, 2014; Ozer-Kaya *et al.*, 2020), jabalíes (Marin-Guzman *et al.*, 1997, 2000), bovinos (Udala *et al.*, 1995), perros (Domoslawska *et al.*, 2015, 2018, 2019), búfalos (Abdel-

Khalek *et al.*, 2010), gallos (Safa *et al.*, 2016) entre otros, pocos estudios se centran en estudiar los efectos de la combinación de Se y Vit. E sobre el comportamiento sexual o libido en los carneros expuestos a hembras mediante el efecto macho (Ali *et al.*, 2009). De igual forma, los machos caprinos y ovinos que efectúan una libido intensa inducen un porcentaje mas alto de ovulación en hembras que aquellos que efectúan una libido baja (Perkins y Fitzgerald, 1994; Flores *et al.*, 2000). Así comprendemos la importancia de la nutrición, especialmente de la suplementación en la eficiencia reproductiva de los ovinos.

Objetivo

Evaluar la respuesta reproductiva de ovejas nulíparas anovulatorias a través del efecto macho, utilizando carneros tratados con selenio más vitamina E.

Hipótesis

El tratamiento de Selenio en combinación con Vitamina E en carneros Dorper aumentarán su desempeño reproductivo, y estos carneros tratados inducirán una mayor respuesta reproductiva a través del “efecto macho” en ovejas nulíparas anovulatorias.

REVISIÓN DE LITERATURA

MARCO TEÓRICO

En esta primera parte, desarrollamos el marco teórico de este estudio. En el Capítulo 1, abordamos la importancia de la nutrición en la eficiencia reproductiva. Para dar paso a un elemento esencial en la dieta de los animales.

En el Capítulo 2, partimos de las características del selenio, su farmacocinética y su mecanismo de acción. Luego, nos referimos a diferentes relaciones de este mineral con sus deficiencias y toxicidad.

En el Capítulo 3, presentaremos las características de la vitamina E, su farmacocinética y su mecanismo de acción. Por último, presentaremos en el Capítulo 4, la relación existente entre el selenio y la vitamina E. Esta discusión nos lleva directamente al análisis de la importancia de estos elementos, particularmente desde una cualidad reproductiva.

En el Capítulo 5, abordaremos el tema del efecto macho y el comportamiento sexual en ovinos, su concepto, teorías, leyes, conocimientos y modelos teóricos. A partir de este tema, esperamos obtener información acerca de la influencia del comportamiento sexual del macho y del método de inducción de estro en las hembras. Por último, analizaremos la relación entre la circunferencia escrotal y la eficiencia reproductiva.

CAPÍTULO 1

Nutrición y eficiencia reproductiva

En pequeños rumiantes, el inicio de la pubertad depende de varios factores como estación de nacimiento, fotoperíodo, nutrición, manejo, genética, regulación hormonal, peso corporal y tamaño (Mohamed *et al.*, 2012; Ahsan *et al.*, 2014). Entre estos factores, la nutrición es considerada como un factor fundamental que regula el logro de la pubertad directa e indirectamente (Ahsan *et al.*, 2014), una nutrición insuficiente a una edad precoz retrasa la pubertad y la madurez sexual (Surai y Fisinin, 2015). Esto confirma el efecto indirecto de la nutrición en la regulación de la producción de hormonas reproductivas. El efecto de la nutrición sobre la reproducción ha sido ampliamente investigada. Y de manera general, se concluye que en animales desnutridos, la secreción de GnRH se ve reducida (Wade y Jones, 2004; Zarazaga *et al.*, 2005; Azevedo *et al.*, 2006).

Una pobre nutrición también ralentiza la tasa de crecimiento, que en los machos resulta en testículos de menor tamaño, y, por lo tanto, una disminución en la secreción de LH durante la etapa prepuberal, culminando en baja producción de testosterona (Mojapelo y Lehloenya, 2019). La testosterona es esencial para el desarrollo y mantenimiento del comportamiento sexual en carneros. La actividad sexual aumenta con niveles elevados de testosterona durante la pubertad (Thwaites, 1982; Orgeur y Signoret, 1984). Un bajo crecimiento testicular y baja secreción de LH están asociados con un menor número de células de Sertoli y, por lo tanto, una reducción de la producción y maduración de los espermatozoides. Esto va a retrasar la pubertad (Arova *et al.*, 2003; Ali *et al.*, 2009).

En ovejas, una deficiente nutrición por periodos prolongados tiende a ocasionar una disminución del porcentaje de ovejas que muestran celo. Además, acorta la amplitud de la estación de celos, aunque esto se aprecia solamente en los casos en que la alimentación es extremadamente deficiente. Por el contrario, una nutrición adecuada incrementa el número de hembras en celo, además de que aumenta el número de óvulos liberados (INIFAP, 2006).

CAPÍTULO 2

Características y disponibilidad de Se

El selenio es un mineral traza esencial, que presenta un color blanco grisáceo cristalino y una estructura hexagonal. Es ligeramente soluble en bisulfuro y soluble en éter, e insoluble en agua y alcohol (Walji, 2007). En 1979 comienza a ser agragado a la dieta de los animales en dosis de 0.1 mg/Kg de MS (FDA, 1979), en 1989 se aumentó a 0.3 mg/Kg (FDA, 1989).

En muchas áreas del mundo las plantas no proporcionan niveles adecuados de este elemento para cumplir con los requisitos de la dieta (Hogan *et al.*, 1993). La disponibilidad de Se, depende de la forma en que este es suministrado; la forma de suministrar Se orgánico está asociado con metionina y levaduras, se absorbe de manera rápida por la pared intestinal incorporándose a las proteínas (Weiss, 2003). El selenio en forrajes y granos de semilla normalmente está presente como selenio orgánico en forma de selenocistina, selenocisteína y selenometionina, muestra que las fuentes vegetales orgánicas son más potentes que las inorgánicas (Frape, 1998). En las plantas, el mayor compuesto selenificado, el cual se puede comprobar

en raíces como el ajo y la cebolla, es la metiloselenocisteína (Whanger, 2002). Se sospecha que otras 30 selenoproteínas, también tienen importancia en la regulación metabólica y se ha demostrado que se incorpora a las proteínas animales como selenocisteína (Beckett y Arthur, 2005).

La disponibilidad de Se se ha reducido durante la última década. Esto se debe a la cantidad reducida de alimento necesario por unidad de ganancia de peso y el coincidente aumento en el depósito de proteínas corporales, que posible ha contribuido a la aparición de Mulberry Heart Disease (MHD) (Oropeza-Moe, 2019). Factores como el clima, estación del año, tipo de suelo, la presencia de otros elementos competitivos o contaminantes, las sucesivas fertilizaciones, las especies forrajeras presentes y la edad de las plantas afectan la concentración de minerales presentes en los forrajes. Además, estos factores cambian e incluso inhabilitan la capacidad de los animales de cubrir sus requerimientos en micro minerales (Georgievskii *et al.*, 1982). Las plantas que crecen en tipos de suelos volcánicas, que prácticamente no contienen Se, sufren deficiencia y esta deficiencia se ve reflejada en los animales que se alimentan de estas plantas (Whanger, 2002).

Otra alternativa es utilizar fuentes inorgánicas que se pueden administrar de forma parenteral (soluciones inyectables), por vía oral directa (premezclas, sales minerales, bolos intrarruminales) y por vía oral indirecta (fertilización de suelos con Se); sin embargo, la alternativa de fertilización de suelos con Se continúa en discusión generalmente por el desconocimiento del comportamiento biológico del Se y por el peligro de provocar intoxicaciones (Stowe y Herdt, 1992). La mayoría de los preparados comerciales son elaborados con selenito de sodio y la dosis

recomendada es de 0.05 mg/Kg PV, que puede resultar baja en el tratamiento parenteral y requerirá repeticiones semanales (Carbajal *et al.*, 2013). La selenometionina puede funcionar como almacén de Se sin actividad al ser incorporada directamente en la proteína corporal, a diferencia del Se inorgánico que se incorpora solamente dentro de un aminoácido específico que es la cisteína, dentro de la selenoproteína (Kincard, 1995).

Se puede utilizar la selenometionina (selenolevaduras) y sales inorgánicas de Se (selenatos y selenitos), excepto en los inyectables. La suplementación con selenometionina implica casi el doble de la disponibilidad biológica de Se, que con el uso de selenito (Xia, 2005) y es considerada adecuada por su más rápida incorporación a las proteínas del animal (Jenkins e Hidioglou, 1971; Nicholson *et al.*, 1991), sin embargo, su uso puede hoy ser seriamente discutido considerando la incorporación “bioactiva” del Se en las enzimas (Allan *et al.*, 1999; Behne y Kyriakopoulos, 2001). Las mezclas con selenometionina además son considerablemente más caras y en rumiantes es probable la transformación de sales inorgánicas a selenometionina por la microflora ruminal (Kim *et al.*, 1997). La elección de la forma de suplementación con Se dependerá de las condiciones productivas y la facilidad para utilizarla (Kott *et al.*, 1983).

Farmacocinética de Se

A nivel transplacentario, el feto cubre sus necesidades en cantidades variables dependiendo de la condición de la madre. En el caso de los rumiantes el

Se pasa al feto aun cuando la madre cuenta con niveles bajos de Se disponible (Abd *et al.*, 2007). Por esto se sugiere que es posible que la hembra sacrifique su propia condición para mantener el transporte de Se a la cria, llegando a observarse una reducción de los niveles plasmáticos del Se materno, conforme avanza la gestación y los fetos aumentan de peso y tamaño (Beckett y Arthur, 2005; Abd *et al.*, 2007). En borregas primerizas, las concentraciones fetales de Se caen ligeramente en el último tercio de la gestación, en los días 100 al 148, de 0.29 a 0.20 mg/Kg (Langlands *et al.*, 1982; Grace *et al.*, 1986).

Cuando se administra selenio en forma de seleniato, este es principalmente absorbido en el duodeno, se reduce a selenito, uniéndose a las proteínas plasmáticas; así, es llevado por el torrente sanguíneo al bazo y al hígado. El hígado actúa como reservorio de Se y es el órgano que más refleja los niveles de Se en el animal y sus variaciones en función del aporte (Mahan *et al.*, 1975; Mahan y Kim, 1996). En el hígado es reducido a Se elemental, por la glucosa, que lo lleva a todos los tejidos excepto a los tejidos grasos. En los cerdos, se absorbe más Se en la última parte del intestino delgado, ciego y colon que en el estómago y partes proximales del intestino delgado (Wright y Bell, 1966).

La eliminación del Se ocurre por medio de la respiración, orina y excremento, se elimina considerablemente y de manera relativamente rápida, aunque cuando el consumo es alto tiende a acumularse causando lesiones en los tejidos (Villanueva, 2011). En rumiantes el selenio se elimina en heces y ocurre en dos etapas: La primera etapa está relacionada con la dosis administrada; la segunda, es influenciada por la cantidad de Se presente en el animal (Pope *et al.*, 1979). Otra forma de excreción es por medio de la exhalación, la orina o la excreción endógena

fecal. En la secreción biliar aproximadamente un 28% de la ingestión total corresponde a Se; a pesar de que la mayor parte se reabsorbe, el resto se elimina en las pérdidas endógenas fecales, las cuáles afectan negativamente el balance de Se (Langlands *et al.*, 1986).

En los rumiantes, la absorción y digestibilidad de Se es muy baja, alrededor del 19% en ovinos (Ammerman y Miller, 1975). La baja digestibilidad en rumiantes es atribuida al ambiente retículo-ruminal, el cual genera seleniuros que son formas insolubles, donde los microorganismos ruminales podrían ocasionar pérdida importante de Se, ya que estos contribuyen a convertir una parte del Se a Se elemental y seleniuros, mientras que otra parte la incorporan a sus proteínas con la formación de selenoaminoácidos, selenometionina y selenocisteína, el posible uso posterior aun se desconoce (Harrison y Conrad, 1984a,b; Harrison *et al.*, 1984).

Mecanismo de acción de Se

El Se es un componente crítico de las selenoproteínas, que participan en el mantenimiento del estado redox y la desintoxicación de especies reactivas de oxígeno ROS (Zhang *et al.*, 2020). El selenio es un mineral indispensable para el desarrollo testicular normal, para la motilidad y función espermática, así como para la espermatogénesis.

El Se en pequeñas cantidades, estimula los procesos vitales, es indispensable para el funcionamiento normal del sistema inmune, corazón, músculos, hígado, páncreas, riñones, plasma, glóbulos rojos, tiroides, y es también

muy importante para mantener la integridad de las membranas celulares. Participa en la absorción de lípidos y tocoferoles en el tracto digestivo, a través de la lipasa pancreática. Forma parte de algunas enzimas de los microorganismos del rumen. Por su alta actividad química, el Se actúa también como un removedor de metales pesados de la bioquímica del organismo animal, como un desintoxicante frente al Cd, Hg, Al, As, Ag y Pb (Villanueva, 2011).

El principal efecto bioquímico del selenio tanto en animales como en humanos es que tiene propiedades antioxidantes por medio de la enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px) ligada al selenio, por lo tanto, protege los orgánulos y las membranas celulares del daño peroxidativo (Moslemi y Tavanbakhsh, 2011). La GSH-Px dependiente de Se parece ser el principal dependiente de la enzima en el tracto GI y esta molécula podría ejercer un papel importante en la protección de los mamíferos ante la toxicidad de los hidroperóxidos de lípidos ingeridos (Chu y Esworthy, 1995; Chu y Doroshov, 1993). La GSH-Px dependiente de Se, se expresa a niveles de concentraciones más bajos cuando el organismo entra en deficiencia de Se (Burk, 1991). La actividad y concentración de glutatión peroxidasa en sangre, se sugiere para valorar la concentración de Se de manera indirecta (López-Gutiérrez *et al.*, 2012). Posiblemente una baja actividad de GSH-Px reduce la vida media de los macrófagos, afectando los fenómenos de presentación antigénica y las respuestas humorales, con menor concentración de inmunoglobulinas (Aziz *et al.*, 1984).

Deficiencia y requerimientos de Se

El problema de la deficiencia de selenio es endémico, desde el altiplano hasta el sur de México, es por esto por lo que, los alimentos producidos en esta región son pobres en Se, ocasionando concentraciones inadecuadas para mantener las funciones fisiológicas en los animales (McPherson y Chalmers, 1984). Se consideran niveles insuficientes de Se en el suelo cantidades menores a 0.5 mg/Kg, o niveles en plantas menores a 0.1 ng/Kg (Smith y Sherman, 1994; Pugh, 2002).

La deficiencia de Se involucrada en miocardiopatías fatales es bien conocida en los cerdos como Mulberry Heart Disease (MHD) (Lingaas *et al.*, 1990; Grant-Maxie y Robinson, 2016; Loynachan, 2012). Un modelo de deficiencia y reposición de Se en roedores mostró una distribución distinta de las enzimas, lo que sugiere que el corazón puede ser el órgano más sensible al estrés oxidativo (Weitzel, 1990). Probablemente esta deficiencia provoca un estrés oxidativo no compensado que conduce a daño, a menudo resultando en la muerte (Loynachan, 2012).

La insuficiencia de Se señala baja fertilidad en machos afectados, con semen de baja calidad, bajas cuentas espermáticas e incremento de anormalidades. Principalmente se han observado anomalías de la pieza intermedia y flagelo del espermatozoide que ocurren desde la espermiogénesis testicular, estas anomalías se han ligado a la baja actividad de una glutatión peroxidasa, llamada espermónúcleo GSH-Px (snGSH-Px) presente en el núcleo del espermatozoide, único lugar donde existe la selenoproteína, que se cree participa en los arreglos de las proteínas asociadas al ADN (Beckett y Arthur, 2005). Kaur y Bansal (2004) demostraron que los niveles de testosterona, FSH, LH se redujeron significativamente durante la deficiencia de Se.

La deficiencia de Selenio afecta los niveles de inmunoglobulinas tipo G (IgG) y la función de las células T, factores que determinan mayor severidad y prevalencia de enfermedades usualmente presentes en los animales (John *et al.*, 2003).

El diagnóstico de la deficiencia de Se, se ha correlacionado entre la determinación de Se y la actividad de GSH-Px en sangre, sin embargo, cuando pretende medir la respuesta a la suplementación se considera preferente la determinación directa del Se en sangre y en tejidos (hígado, riñón), aunque se trate de un proceso más elaborado y por consiguiente más costoso (Koller y Exon, 1986; Stowe y Herdt, 1992).

En animales, como el ganado, los requisitos de Se son diferenciados según la musculatura (Mehdi y Dufrasne, 2016). El nivel de Se sugerido para un aporte adecuado en ovinos y capinos es el ofrecimiento de 0.1 a 0.3 ppm/MS en el total de la dieta (Ullery *et al.*, 1978; Smith y Sherman, 1994). En México, según las experiencias obtenidas, se sugiere utilizar una dosis de 0.25 mg de Se en corderos aparentemente sanos y 0.5 mg en corderos con signos de distrofia muscular nutricional o enfermedad del músculo blanco (Ramírez, 2009).

Toxicidad de Se

La intoxicación por Se es una amenaza seria en las regiones donde el elemento se encuentra disponible en exceso en los suelos (Driscoll y Copeland, 2003). Según Ref. (Bezerra *et al.*, 2009) la concentración de Se de 50 ng/g se considera marginal mientras que 80 ng/g es adecuado y más de 300 ng/g se considera como niveles tóxicos.

El cuadro de toxicidad por Se ocurre en dos formas, la aguda que puede resultar de un consumo en exceso, en una sola ocasión, de plantas seleníferas que contienen más de 20 mg/Kg (Rosenfeld, 1964; Kim y Mahan, 2001) o de la inyección de una sobredosis de más de 1.6 mg/Kg de peso corporal de Se, presentando trastornos nerviosos, ceguera, depresión, disnea, mucosas pálidas, ataxia, hipertermia, pulso débil, dolor abdominal, diarrea oscura, meteorismo, poliuria, neuritis espinal y muerte (Millar y Williams, 1940; Mahan y Moxan, 1984; James *et al.*, 1992; Villanueva, 2011). En casos como este, a la necropsia se observan hemorragias sistémicas en forma dominante. No existe tratamiento específico para los casos agudos de intoxicación por Se y los animales afectados mueren incluso antes de establecer el diagnóstico.

La otra forma de toxicidad por Se, es la crónica o “Enfermedad del álcali” y ocurre cuando los animales consumen cantidades de 5 a 20 ppm durante largos periodos de tiempo (Goehring *et al.*, 1984; Mahan y Moxan, 1984). En esta forma de toxicidad crónica se presentan signos como parálisis de la lengua, sialorrea, disnea, hipotermia, emaciación, anemia, dermatitis, alopecia, rigidez y cojera debido a erosión en la unión de los huesos grandes, pérdida de pezuñas y cuernos, nefritis, desarrollo embrionario anormal, atrofia del corazón y cirrosis hepática (Ekermans y Schneider, 1982; NRC, 1983). A la necropsia se observa degeneración del músculo cardíaco (NAS, 1971). Para contrarrestar esta forma de toxicidad por Se, la fertilización de los campos con azufre puede mejorar la relación azufre/selenio en el suelo y reducir la captación de Se por las plantas (Hefnawy y Pérez, 2008).

CAPÍTULO 3

Características de Vit. E

La vitamina E es liposoluble y presenta una estructura constituida por tocoferoles. Es uno de los nutrientes antioxidantes y existe de modo natural bajo muchas formas diferentes. La vitamina E también se conoce como “vitamina anti-esterilidad” o antioxidante secuestrante. Puede suprimir la producción de ROS y reducir la producción de óxido nítrico (Sies *et al.*, 1992; Walji, 2007).

Entre varios nutracéuticos y aditivos, la vitamina E se considera más potente, debido a los efectos benéficos sobre la calidad del semen (Yousef *et al.*, 2003). Además, la vitamina E es el principal constituyente del sistema de defensa antioxidante de la membrana del espermatozoide, protegiendo contra especies reactivas de oxígeno y atacando la peroxidación lipídica. La vitamina E ayuda a mantener la homeostasis de las células (Kale *et al.*, 1999).

La suplementación con Vit. E aumenta la producción total y la concentración espermática en pollos (Surai *et al.*, 1998^a; Lin *et al.*, 2005), pavos (Donoghue y Donoghue, 1997), conejos (Yousef, 2010) y carneros (Yue *et al.*, 2010).

Una deficiencia de Vit. E puede provocar efectos perjudiciales en los órganos reproductivos, como daño testicular y degeneración en espermatogonias y túbulos seminíferos (Wilson *et al.*, 2003). Al igual que, alteración de la sensibilidad a la vibración y la posición, resultando en cambios en el equilibrio y la coordinación, pérdida de los reflejos tendinosos, debilidad muscular y trastornos visuales.

Además, existen lisis de eritrocitos, prolongación del tiempo de coagulación y almacenamiento deficiente de Vit. A (Escott-Stump, 2011).

Farmacocinética y mecanismo de acción de Vit. E

La vitamina E después de su aplicación vía intramuscular es absorbida en la parte proximal del ID por difusión dependiente de micelas y es transportada por el sistema circulatorio vía beta-lipoproteína. Generalmente se absorbe de 20 a 40% de la vitamina E ingerida en las comidas. La bilis y las secreciones pancreáticas son necesarias, además de las partículas VLDL y LDL para transportarla a los tejidos. Una UI de Vit. E equivale a 0.67 mg de RRR-alfa-tocoferol y 1 mg de toco-rac-alfa-tocoferol. Se almacena en el tejido adiposo. Es metabolizada en hígado y se elimina principalmente en bilis y en menor cantidad en orina y leche (Escott-Stump, 2011).

La Vitamina E puede eliminar ROS (Niki, 2014; Guo *et al.*, 2018) y actúa como estabilizador de la permeabilidad de la membrana celular (Navarro *et al.*, 1999; Wang y Quinn, 1999). Los tocotrienoles y otras formas influyen en el metabolismo del colesterol, arterias carótidas e inmunidad contra el cáncer. La forma natural de la Vit. E es el D-a-tocoferol. La forma sintética DL-a-tocoferol es menos efectiva (Escott-Stump, 2011). La suplementación con Vit. E impide la autooxidación de los lípidos, participa en el sistema muscular, vascular, reproductivo, nervioso central y en la síntesis de prostaglandinas mejorando la actividad del sistema inmunitario (Escott-Stump, 2011).

CAPÍTULO 4

Relación de Se y Vit. E

El Se y la Vit. E juegan un papel crítico en muchos procesos fisiológicos, especialmente para la inmunidad, reproducción y defensa antioxidante (Sezer *et al.*, 2020; Kaya *et al.*, 2019; Butt *et al.*, 2019). Existe una correlación entre el Se y la Vit. E, en la cual cualquiera entre ellos puede sustituir al otro, hasta cierto punto, pero nunca en su totalidad. Para que exista una absorción máxima de Vit. E, se requiere la presencia de niveles normales de Se y viceversa (Villanueva, 2011). Surai (2002) confirmó que la vitamina E no elimina todos los radicales libres y que el resto es dependiente sobre la actividad de Se-GSH-Px. Además, incluso a niveles muy altos de vitamina E en la dieta hay una necesidad de Se (Cheng *et al.*, 1999; Surai, 2002).

Se ha demostrado que la Vit. E está presente en la membrana celular de los espermatozoides, donde ayuda a mantener la integridad de la membrana (Donoghue y Donoghue, 1997); y el Se funciona en todo el citoplasma para destruir los peróxidos (Surai, 2002) lo que sugiere una sinergia entre ambos en el sistema antioxidante. Además, tanto la vitamina E como Se son necesarios para el desarrollo y producción de los espermatozoides, a través de sus efectos sobre aumentar las concentraciones de testosterona (Kaur y Bansal, 2004). Por lo tanto, la combinación de suplemento de vitamina E con Se orgánico podría mejorar aún más la calidad seminal como GSH-Px dependiente de Se continúa el trabajo de vitamina E desintoxicando hidroperóxidos (Surai, 2002; Agarwal *et al.*, 2005).

La vitamina E o el Se pueden regular la proliferación celular (Gao *et al.*, 2020), la apoptosis (Miranda *et al.*, 2011) y la secreción de hormonas esteroides a través de la modulación de la expresión del ciclo celular (Yao *et al.*, 2018) y genes relacionados con la esteroidogénesis (Yao *et al.*, 2018; Sen-Gupta *et al.*, 2004), promoviendo así el desarrollo folicular. Estas sustancias comparten un mecanismo de acción similar, reducen el estrés oxidativo testicular, ayudando en la recuperación rápida de tejidos testiculares y restaurar las características de calidad del esperma mejorando el desempeño reproductivo de machos y hembras que están bajo estrés oxidativo (Ahmed *et al.*, 2020; Mahmood *et al.*, 2020; Shahat *et al.*, 2020). Los testículos sometidos a choque térmico por estrés calórico presentan inhibición de los mecanismos de defensa antioxidantes locales frente a los radicales libres y la peroxidación lipídica. La Vit. E y el Se protegen las membranas biológicas contra los radicales libres para evitar la peroxidación lipídica de la membrana (Xavier *et al.*, 2016). También se ha encontrado que la suplementación de búfalos-toros con selenio y/o vitamina E mejoró la libido (Khalifa, 1997), además, aumenta la concentración, motilidad y viabilidad, longevidad y calidad espermática de semen de carnero enfriado mientras disminuye las anomalías espermáticas en ratones y ratas (Azawi y Hussein, 2013; Kendall *et al.*, 2000; Husein *et al.*, 2011). (Véase la Figura 1).

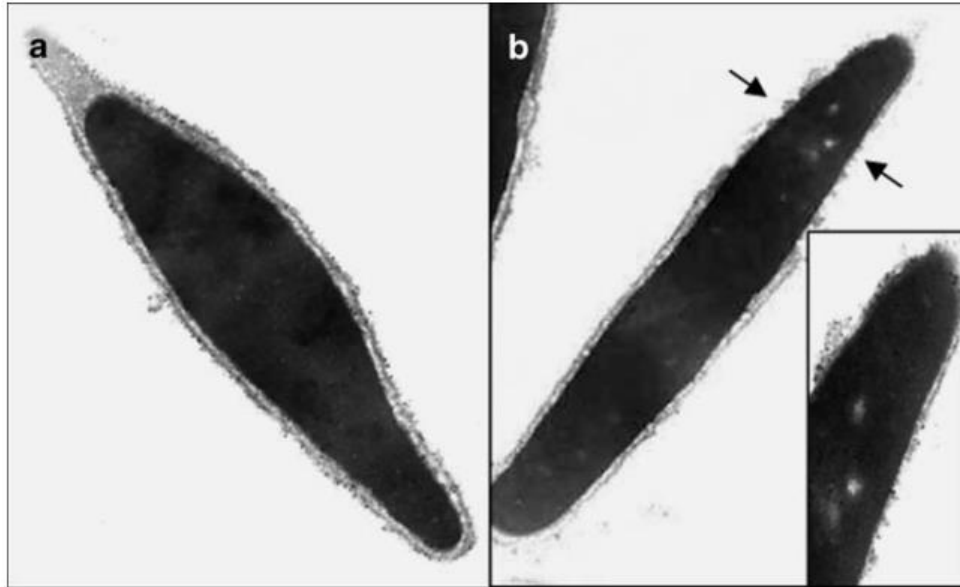


Figura 1. Respuesta a la deficiencia de Se en la ultraestructura de núcleos de espermatozoides de ratones mantenidos en dos dietas, a. Selenio suficiente o b. Selenio deficiente. Se examinaron por transmisión microscopía electrónica ($\times 15.000$). Los núcleos de espermatozoides de animales con suficiente selenio eran uniformemente densos en electrones, y la envoltura nuclear estaba intacta. Por otro lado, los núcleos de los espermatozoides de animales deficientes en selenio exhibieron una densidad de electrones heterogénea, y la envoltura nuclear estaba frecuentemente interrumpida (flechas). El recuadro en b muestra una parte del núcleo bajo mayor aumento ($\times 20,000$) (Sánchez-Gutiérrez *et al.*, 2008).

En un estudio de Kaya *et al.*, (2019), se determinó que la aplicación de Vit. E más selenio aumentó la actividad de la arginasa en el volumen seminal, en el plasma seminal, la motilidad y la concentración de los espermatozoides, mientras que redujo nivel de óxido nítrico en plasma seminal y pH del semen. Como resultado, se sugirió que las aplicaciones de Vit. E más selenio pueden mejorar el rendimiento reproductivo en carneros.

Se más Vit. E y espermatogénesis

Tanto los testículos como el epidídimo requieren suministrado exógeno de Se para sintetizar una variedad de conocidas selenoproteínas, cuyo papel en la espermatogénesis y la maduración post testicular de los espermatozoides no está claramente definida (Ali *et al.*, 2009). La pieza intermedia de la cola del esperma está rodeada por una espiral compuesta en gran parte por mitocondrias. Se ha identificado una selenoproteína en el exterior de la membrana mitocondrial en ratas (Brown y Burk, 1973; Calvin y Cooper, 1979) y espermatozoides de toro (Pallini y Bacci, 1979), lo que propone que el selenio tiene un papel en el desarrollo celular de los espermatozoides. Se mostró una alteración en la pieza central de la cola cuando verracos fueron alimentados con dieta baja en Se (Marin-Guzman *et al.*, 2000). El selenio también se requiere en abundancia durante la espermatogénesis y recolección de semen para combatir el estrés oxidativo (El-Mokadem *et al.*, 2012). En machos criados con una dieta baja en selenio, se encontró hipogonadismo masculino, así como una producción reducida y deteriorada calidad del semen (Kleene, 1993). El selenio afecta directamente a las células intersticiales de los testículos e indirectamente a través del impacto sobre la secreción de hormonas de la adenohipófisis (Yousef *et al.*, 1990).

En un estudio de Mojapelo y Lehloenya (2019), reportó que la suplementación con selenio mejoró la apariencia del semen, la motilidad progresiva, la concentración y viabilidad de los espermatozoides, mientras que redujo el porcentaje de esperma anormal al alcanzar la pubertad. Y aumentó las concentraciones de testosterona y hormona luteinizante en cabritos Saanen. Los

porcentajes de espermatozoides muertos y anormales se redujeron en los grupos tratados con selenito de sodio más Vit. E 2 veces por semana durante un mes (Gamal *et al.*, 2013).

La LH es responsable de mejorar la producción de testosterona y, por lo tanto, un aumento en la secreción de LH dirigirá a un aumento en el tamaño testicular. En un estudio de Mojapelo y Lehloenya (2019), también se observó que las concentraciones de testosterona y la LH fluctuaron, aunque, LH fue continuamente aumentando en los cabritos machos suplementados con Se. También ha sido documentado que los cambios en el tamaño testicular están estrechamente relacionados con la producción de testosterona (El-Zelaky *et al.*, 2011) y un aumento de LH estimula el crecimiento testicular y espermatogénesis en el macho cabrío puberal (Ahmad *et al.*, 1996).

Se más Vit. E y pubertad

La pubertad señala un instante a partir del cual los animales, tanto machos como hembras, comienzan a tener un interés realmente productivo (Zavala-Elizarraraz *et al.*, 2008). El momento del inicio de la pubertad va a condicionar la duración de la vida reproductiva del animal, por lo que al adelantar su aparición se consigue alargar la misma y, en consecuencia también la vida productiva (Bailos, 2018).

El peso corporal ha demostrado ser un mejor indicador del logro de la pubertad que la edad (Valasi *et al.*, 2012). En las cabras, la pubertad ocurre cuando un cordero ha alcanzado un peso corporal del 40% al 50% del peso de un adulto

(Elhammali, 2014; Barth *et al.*, 2008). Wilkins *et al.* (1982) encontraron un aumento en el peso corporal de carneros suplementados con Se. El selenio representa un papel en el metabolismo de las hormonas tiroideas que se sabe están involucradas en el mecanismo del crecimiento (Chadio *et al.*, 2005). Por lo tanto, podría interpretarse que un mayor peso corporal de las cabras suplementadas con Se podría ser la razón de la mejora de las características reproductivas.

El peso corporal del cordero a los 30 días de edad mejoró significativamente mediante la administración de vitamina E y una combinación de vitamina E y selenio. De manera similar, la ganancia de peso promedio (80.00, 90.50 y 91.25) mejoró ($p < 0,05$) luego de la administración de vitamina E y selenio. El efecto beneficioso de la suplementación con selenio y vitaminas sobre el peso corporal de los corderos y el aumento de peso diario se ha informado anteriormente (Boscos *et al.*, 2002). Akpa *et al.* (1994) informó una ganancia diaria promedio de 79.3 g, mientras que (Osinowo *et al.*, 1991) observó una ganancia de peso diaria de 91.8 g.

Mojapelo y Lehloenya (2019) demostraron que la suplementación con Se en cabritos machos prepúberes en una dieta deficiente en Se mejoró la ganancia de peso corporal y redujo el tiempo hasta el inicio de la pubertad. De acuerdo con los resultados del estudio (Shi *et al.*, 2010), informó que la suplementación con Se resultó en una respuesta positiva de crecimiento en cabritos machos. El mayor peso corporal confirma que la suplementación con Se juega un papel crítico en el desarrollo estructural y la función de muchos sistemas celulares, incluido el sistema inmunitario, y ganando masa de tejidos corporales (Kumar *et al.*, 2009).

CAPÍTULO 5

Efecto macho

En ovejas y cabras, la exposición a machos maduros estimula el sistema neuroendocrino reproductivo de las hembras anéstricas, lo que conduce a una ovulación fuera de temporada, el llamado "efecto macho" (Martin *et al.*, 1986; Delgadillo *et al.*, 2009). El efecto macho tiene la capacidad para aumentar la secreción de hormonas reproductivas e inducir la ovulación (Hawken y Martin, 2012).

Recientemente ha habido un resurgimiento en el número de artículos científicos publicados sobre el efecto macho, probablemente impulsado por el potencial del fenómeno como métodos 'limpios, verdes y éticos' de controlar la reproducción (Delgadillo *et al.*, 2004; Martin y Kadokawa, 2006; Martin *et al.*, 2004). La ovulación inducida por machos fue reportada por primera vez en ovinos en la década de 1940 y se denominó "efecto macho" "ram effect" (Underwood, *et al.*, 1994; Hawken y Martin, 2012). En las cabras, este fenómeno fue descrito más adelante (Shelton, 1960). Sin embargo, hay pruebas de que los científicos conocían la capacidad de los carneros para estimular la actividad reproductiva entre un rebaño de ovejas desde principios del siglo XIX (Girard, 1813).

En cabras y ovejas anéstricas, la exposición a un macho provoca inmediatamente un incremento en la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH (Álvarez y Zarco, 2001; Hawken y Martin, 2012). Si el estímulo de los machos permanece por varias horas o días, el incremento en la secreción de hormonas

hipofisarias (LH y FSH) provoca el desarrollo de los folículos ováricos, que secretan elevadas cantidades de estradiol, lo que permite la aparición del pico preovulatorio de LH y la ovulación (Chemineau, 1987; Ungerfeld *et al.*, 2004). Igualmente funciona para restablecer la actividad ovárica posparto (Pérez *et al.*, 2002). Un concepto esencial es inducir la ovulación sincronizadamente, ya que esto facilita la inseminación artificial (Hawken *et al.*, 2007).

En concreto, cuando se juntan carneros o machos cabríos con ovejas o cabras anovulatorias, respectivamente, que hayan permanecido previamente aisladas de los machos, una proporción del rebaño ovulará, mostrará estro y quedará preñada (Chemineau, 1987; Martin *et al.*, 1986). También se ha sugerido que este estímulo sexual puede desencadenar la luteólisis durante la fase lútea avanzada (Ungerfeld *et al.*, 2003), como se ha propuesto en cabras (Chemineau, 1983; Hawken *et al.*, 2007b).

Comportamiento sexual y efecto macho

Recientemente, el ovino doméstico se ha vuelto una valiosa herramienta para comprender el comportamiento sexual, los sistemas endocrinos y neurales relacionados con la reproducción (Perkins y Roselli, 2007). Dado que las proporciones de animales recomendadas para los productores de ovejas es entre 1:30 y 1:50 carneros a ovejas, los productores deben asegurarse de que sus carneros sean eficientes (Perkins y Roselli, 2007).

La activación estacional del eje reproductivo inicia con elevaciones cíclicas de progesterona y estradiol que desencadenan la expresión del comportamiento

estral en la oveja, y estimula una mayor producción de testosterona por parte de los testículos de los machos, que a su vez desencadena la expresión de la libido en el carnero. La mayoría de los carneros domésticos se aparearán fuera de temporada, pero no exhiben un pico de rendimiento a menos que se les brinde una exposición regular a ovejas en estro (Tulley y Burfening, 1983; Tilbrook y Cameron, 1990). Por lo tanto, los estudios de comportamiento sexual en machos se planifican mejor durante el pico de la temporada de reproducción en otoño y principios de invierno.

La intensidad del comportamiento sexual mostrado por los machos puede influir en la respuesta endocrina y ovulatoria de las hembras. En un trabajo de Perkins y Fitzgerald (1994), una mayor proporción de ovejas ovularon cuando fueron expuestas a carneros que mostraron un comportamiento sexual intenso que ovejas que estuvieron expuestas a machos que mostraban un bajo comportamiento sexual. En ovejas y cabras, la presencia continua de carneros sexualmente activos impidió la disminución estacional natural de las concentraciones plasmáticas de LH de las ovejas, probablemente, al prevenir la retroalimentación estacional negativa del estradiol sobre la secreción de LH (Abecia *et al.*, 2019).

La importancia de la duración de contacto entre macho y hembra para inducir la ovulación se ha reportado en varios estudios. Murtagh *et al.*, (1984); Oldham y Pearce, (1983); Signoret *et al.*, (1982) han sugerido que la presencia continua del macho se requiere para que maximice las respuestas endocrinas u ovulatorias de las hembras al estímulo del macho. En ovejas, 6 h de contacto con carneros induce un rápido aumento en la secreción de LH, pero no es suficiente para provocar la ovulación, y la secreción de LH vuelve a los niveles previos a la estimulación

después de que se extrae el macho (Pearce y Oldham, 1984). En ovejas y cabras, la introducción de machos en un grupo de hembras anovulatorias estacionales puede activar la secreción de LH, lo que conduce a la ovulación dentro de los primeros 5 días de contacto (Chemineau, 1987; Delgadillo *et al.*, 2009; Chanvallon *et al.*, 2011). Signoret *et al.* (1982) determinaron que el 20% de las ovejas ovularon cuando se expusieron a carneros durante 24 h, y que esto aumentó al 51% durante 4 días de exposición, y al 61% para 13 días de exposición. En un estudio en Inglaterra, la presencia permanente de carneros condujo a una distribución del celo más sincronizada que a una exposición a carneros a corto plazo (24 h) repetida a intervalos de 17 días hasta el apareamiento (Hawken y Beard, 2009).

La presencia continua de los machos estimulantes parece ser necesario para mantener una alta frecuencia de pulsos de LH. Sin embargo, la ovulación se puede inducir incluso si los machos están presentes de forma intermitente. Parece probable que cada reintroducción de machos induce pulsos de LH, especialmente con machos sexualmente activos, y que estas ráfagas sucesivas de pulsos son suficientes para promover el desarrollo folicular del ovario a través de retroalimentación positiva, el aumento de LH y la ovulación. Por tanto, el contacto continuo no parece un requisito absoluto. Si se confirmara la eficacia de la exposición intermitente, puede significar que las hembras responden a cada exposición sucesiva a machos como si los machos fueran nuevos (Delgadillo *et al.*, 2009). Las hembras pueden aprender y recordar la identidad de machos nuevos y familiares, como ya se informó en reconocimiento madre-joven (Levy y Keller, 2004) y esto podría explicar la capacidad de nuevos carneros para inducir la ovulación en

ovejas que han tenido cerca (Cushwa *et al.*, 1992) o contacto directo (Pearce y Oldham, 1988). La importancia de la novedad de machos no se limita a las ovejas en anestro porque, en ovejas cíclicas, la sustitución de carneros cada 17 días cambia la distribución del estro en comparación con ovejas mantenidas con los mismos carneros hasta el apareamiento (Hawken y Beard, 2009).

Un estudio de Price *et al.* (1999) muestra que la exposición intermitente de corderos a temprana edad a ovejas en estro pueden mejorar su desempeño sexual con los años. Los carneros que pasaban mucho tiempo cerca de las ovejas en estro en distintos corrales, pero más próximos tienden a ser más activos sexualmente. La exposición temprana de carneros con las hembras aumentará la probabilidad de que los carneros se vuelvan sexualmente activos a una edad más temprana.

Dewsbury (1981) ha propuesto que los comportamientos del macho se pueden describir sobre la presencia (o ausencia) de cuatro eventos o criterios:

1. Empuje intravaginal: algunas especies (por ejemplo, ratas de laboratorio, gatos, ganado, ovejas, cabras) exhiben un solo empuje intravaginal profundo durante la eyaculación, mientras que otras especies (por ejemplo, la mayoría de los primates) muestran empujes repetitivos.

2. Intromisiones múltiples: algunas especies (p. ej., ratas de laboratorio) nunca eyaculan en su primera intromisión, mientras que otras especies (p. ej., vacas, ovejas, cabras) son capaces de eyacular en su primera inserción del pene*.

*El número de intromisiones por el macho también puede afectar el número de espermatozoides eyaculados (Toner y Adler, 1986). Las intromisiones facilitan el

transporte de espermatozoides en la hembra desde el sitio de depósito en el útero (Adler, 1969). Además, actúan en la eliminación de tapones copulatorios, yesos vaginales y otros materiales del tracto reproductivo de la hembra para que se pueda depositar un tapón ajustado con la eyaculación (Dewsbury, 1981).

3. La estimulación vaginal también puede aumentar o disminuir la receptividad femenina posterior (Carter y Schein, 1971; Komisaruk y Diakow, 1973). Las intromisiones múltiples y las eyaculaciones múltiples son importantes para iniciar los reflejos neuroendocrinos críticos para la preñez.

Los carneros usan señales olfativas para detectar ovejas en celo (Lindsay, 1965). Si se introduce en un corral a una oveja receptiva junto con un carnero con experiencia sexual previa, el carnero se acercará a ella en cuestión de segundos. Existen varios comportamientos estereotipados que el carnero puede realizar antes de su monta inicial. Estos comportamientos incluyen, olfateo de la región ano genital de la oveja; pateando su flanco repetidamente con su pata delantera mientras está de pie detrás y en un pequeño ángulo con respecto a ella (patada delantera); y acariciando, lamiendo y mordisqueando su flanco y área anogenital. Antes de la cópula, los carneros elevarán la cabeza retrayendo el labio superior en respuesta al olor o sabor de la orina de la oveja, un comportamiento denominado Flehmen (Véase Figura 2). La respuesta de Flehmen atrae olores no volátiles hacia el órgano vomeronasal para su detección por el sistema olfativo accesorio. Los machos emiten vocalizaciones semejantes a "gárgaras" de tono bajo antes y durante el pateo de la oveja. La suma total de estos comportamientos en el macho se denomina con frecuencia "comportamientos de cortejo" (Perkins y Roselli, 2007). El

comportamiento de monta en carneros se acompaña de una serie de empujes pélvicos superficiales. Los carneros suelen montar numerosas veces antes de la penetración vaginal y la eyaculación, aunque un carnero experimentado puede eyacular desde la primera monta. Los carneros pueden eyacular múltiples veces con una sola hembra, pero los intervalos entre sucesivas eyaculaciones tienden a prolongarse (Bermant *et al.*, 1969).



Figura 2. Flehmen (Banks, 1964)

Prueba de comportamiento sexual en machos

En la prueba de comportamiento sexual, los carneros son expuestos individualmente a 3 o 4 ovejas en celo inducido mediante hormonas, restringidos en corrales de 4m x 4m durante 10 min. Según resultados de Hulet y col. (1962), se observó que los carneros copulaban en todas las horas del día y de la noche, con número de cópulas máximas por hora entre las 8:00 a. m. y las 10:00 a. m. Es por esto por lo que las pruebas de capacidad de servicio suelen realizarse durante las

primeras horas del día. Antes de realizar la prueba, no es necesario el aislamiento completo de las hembras de los machos para la aplicación efectiva del efecto macho. Oldham y Cognié (1980) encontraron que dos semanas de aislamiento fue suficiente para que los carneros indujeran la ovulación en las ovejas en anestro y Cohen-Tannoudji y Signoret (Cohen-Tannoudji y Signoret, 1987) demostraron que 24 h de aislamiento después de la exposición a corto plazo a los carneros fue suficiente para que las ovejas respondieran a los carneros con una mayor secreción de LH. En la prueba se mide mediante observación directa la latencia de monta, frecuencia de monta, latencia de eyaculación, frecuencia de eyaculación e intervalo post-eyaculatorio (Perkins y Roselli, 2007), empuje, pataleo, olfateo anogenital (Delgadillo *et al.*, 2015). Los carneros se pueden clasificar como sexualmente activos o inactivos después de su primera prueba con hembras.

Algunos carneros sexualmente inactivos comenzarán a copular cuando sean provistos de oportunidades adicionales. Estos carneros son típicamente llamados “de bajo rendimiento sexual” porque inseminan menos hembras (Perkins *et al.*, 1992). Entre el grupo de carneros identificados como sexualmente inactivos, son carneros que no montarán hembras, pero montarán compañeros de corral machos. Un carnero que falla en volverse sexualmente activo cuando se expone individualmente a por lo menos tres hembras en celo durante 20 min en repetidas ocasiones, y que monta machos exclusivamente en presencia de hembras en celo es clasificado como un carnero orientado al macho (Perkins y Roselli, 2007). También existen mecanismos de aislamiento reproductivo, los cuales se han clasificado tradicionalmente en dos categorías: pre-apareamiento y pos-

apareamiento (Mayr, 1963; Dewsbury, 1978). El aislamiento resultante de la incompatibilidad de cortejo (pre-apareamiento) se ha denominado "aislamiento etológico" (Mayr, 1963), o "aislamiento de cortejo". El "aislamiento neuroendocrino", donde los animales pueden copular y los machos pueden transferir esperma, pero la reproducción puede fracasar si no se activan los reflejos neuroendocrinos femeninos, es la categoría de aislamiento pos-apareamiento (Dewsbury, 1978).

Es importante mencionar que Hulet *et al.* (1962) demostró que el éxito en el desempeño copulador puede ser obstaculizado por la presencia de otros carneros en el corral. La necesidad de copular rápidamente es fundamental, ya que los machos dominantes "protegen" a ovejas en estro al reaccionar agresivamente hacia cualquier otro macho (Price *et al.*, 1991). A medida que se acerca la temporada de reproducción, los machos ovinos no domesticados se congregan y a menudo se involucran en peleas que se cree estabilizan las jerarquías de dominio. Durante el celo, los carneros se dispersan y se mueven entre el rebaño en busca de ovejas en celo. Una vez finalizada la temporada de reproducción, los carneros se restablecen en un grupo masculino y pueden alejarse del área de las hembras (Perkins and Roselli, 2007). La competencia entre machos por el acceso a las hembras ha sido casi eliminada a través de la práctica estándar de utilizar un corral de un solo espacio durante muchas generaciones (Price, 1987).

Calderón-Leyva *et al.*, (2017) registró en un experimento las frecuencias de comportamiento sexual apetitivo (CSA), comportamiento sexual consumatorio (CSC) e indicadores de reposo sexual (IRS) en carneros (Tabla 1).

Tabla 1. Principales comportamientos relacionados al comportamiento sexual apetitivo (CSA), comportamiento sexual consumatorio (CSC) e indicadores de reposo sexual (IRS) de carneros.

COMPORTAMIENTO	DESCRIPCIÓN
COMPORTAMIENTO SEXUAL APETITIVO (CSA)	
Flehmen	Elevación de la cabeza y retracción del labio superior en respuesta al sabor y olor de orina de oveja u olor ambiental
Olfateo anogenital	Olfateo en la región genital de la oveja
Aproximación	Frotar, lamer y/o mordisquear superficialmente el flanco de la oveja con intensidad y pasión
Pataleo	El carnero se para detrás de la oveja en un pequeño ángulo con respecto a ella y le da una patada en el flanco con una de las patas delanteras
Vocalización	Emisión de sonidos regularmente durante las aproximaciones o pataleo
Desenvaine	Extrusión parcial de pene
COMPORTAMIENTO SEXUAL CONSUMATORIO (CSC)	
Intentos de monta	El carnero se para detrás de la oveja y hace movimientos con la intención de copular, permanecen ambas patas delanteras en el aire, pero no son colocadas de forma segura sobre la oveja
Monta	Intrusión del pene en la vagina de la oveja con uno o más empujes y por lo tanto puede ocurrir la eyaculación caracterizada por la elevación hacia atrás de la cabeza del carnero
INDICADORES DE REPOSO SEXUAL, AGRESIONES Y ESCAPE (IRS)	
Aislamiento de pie	Postrado de pie en algún lugar del corral separado de la oveja, y mostrándose indiferente a la presencia de esta
Aislamiento echado	El macho yace echado independientemente de si está lejos de las ovejas o si están junto a él
Tiempo de echado	El tiempo que el macho permanece echado, si se echa dos o más veces esto suma para obtener el total
Distracciones externas	El macho se queda entre las ovejas, pero si hay ruidos o movimientos en el exterior del corral, llaman su atención

Intentos de huida	Busca una oportunidad para salir del corral, da paseos por los alrededores del corral de manera inquieta y cuando tenga oportunidad para salir, saltar la cerca
Agresiones	Golpea a las ovejas que se le acercan o encuentra en su camino

Nota: Las categorías y los componentes del comportamiento sexual de los carneros se han descrito y detallado anteriormente (Bermant *et al.*, 1969; Price 1993; Odagiri *et al.*, 1995; Maina y Katz, 1999; Perkins y Roselli, 2007).

Circunferencia escrotal y eficiencia reproductiva

Se ha informado que existe una estrecha relación entre el tamaño testicular y la producción de espermatozoides como se observa en machos de mayor edad (Toe *et al.*, 1994; Al-Ghalban *et al.*, 2004). Es posible que los carneros que poseen testículos pequeños no produzcan suficiente esperma durante el periodo de apareamiento para mantener buenas tasas de fertilización (Mahmoud, 2002). Otros estudios (Matos y Thomas, 1991; El- Zelaky, *et al.* 2011) han descrito una estrecha correlación entre el tamaño de los testículos y las concentraciones plasmáticas de LH, FSH y testosterona. El aumento de testosterona es una indicación de que las células de Leydig tienen una mayor capacidad de respuesta a las gonadotropinas que son estimuladas por el mecanismo del receptor de LH en funcionamiento que controla el almacenamiento y liberación de testosterona (Marin-Guzmán y Mahan, 2000). Además, se ha informado que la suplementación con Se mejora la concentración de testosterona que tiene un efecto directo sobre la actividad sexual secundaria (Mahmoud *et al.*, 2013).

La circunferencia escrotal (CE), es la medida testicular más importante, ya que se correlaciona positiva y directamente con el peso testicular y la producción

espermática, e indirectamente con la edad a la pubertad y la tasa ovulatoria de sus crías (INIFAP, 2006).

El aumento de la circunferencia escrotal muestra un efecto benéfico del Se como antioxidante que participa en la estabilidad de las membranas celulares, el proceso de crecimiento celular y la morfología testicular (Behne y Weiler, 1996). El aumento en el largo y ancho testicular muestra un efecto benéfico para el desarrollo de células germinales y células de Sertoli, por lo tanto, llevan a un aumento del tamaño testicular (Marin-Guzman y Mahan, 2000).

MARCO REFERENCIAL

En esta segunda parte, desarrollamos el marco contextual o referencial de este estudio. En el Capítulo 6, partimos de la estacionalidad reproductiva en ovinos y la influencia de las altas temperaturas o estrés calórico en el desempeño sexual de los machos. Para finalizar, presentamos la definición del concepto de estrés oxidativo causado por especies reactivas de oxígeno (ROS) y la función de los antioxidantes en el Capítulo 7, profundizando en las influencias a nivel reproductivo.

CAPÍTULO 6

Estacionalidad reproductiva en ovinos

La estacionalidad reproductiva, como parte del proceso de selección natural, es un medio de adaptación desarrollado por algunos mamíferos silvestres como una estrategia para reducir el impacto negativo del ambiente (temperatura, humedad y disponibilidad de alimento) en la supervivencia de las crías (Karsh *et al.*, 1984;

Arroyo, 2011; Malpaux *et al.*, 1997), de modo que los nacimientos ocurrieran en la época más favorable del año, con temperatura ambiental confortable y abundancia de pastos.

El origen de la raza determina el comportamiento reproductivo estacional; por lo tanto, las razas originarias de latitudes altas ($>35^\circ$) presentan una marcada estacionalidad reproductiva (Arroyo, 2011; Brunet *et al.*, 2011) mientras que los ovinos de origen mediterráneo o ecuatorial, expresan estacionalidad reproductiva reducida y en ocasiones inexistente (Porrás, 1999; Cerna *et al.*, 2000; Valencia *et al.*, 2006; Arroyo *et al.*, 2007).

Cabras y ovejas de latitudes subtropicales y templadas muestran la estacionalidad de su temporada de reproducción (Ortavant *et al.*, 1985; Delgadillo, 2011). En estas razas, la temporada de crianza ocurre en otoño e invierno, mientras que la anovulación estacional ocurre en primavera y verano (Duarte *et al.*, 2008; Chanvallon *et al.*, 2011).

El ovino posee un sistema neurofisiológico capaz de transformar señales luminosas en señales hormonales a través de la síntesis de melatonina y de esta manera detecta las variaciones anuales en la duración del fotoperiodo (Chemineau *et al.*, 2010; Arroyo, 2011).

El principal órgano regulador en cuanto a la estacionalidad de la reproducción es la glándula pineal, esta registra la duración del día mediante los ojos y un complejo de conexiones neuronales (véase la Figura 3). La glándula pineal produce indolaminas, de las cuales la melatonina es la más importante. La melatonina es producida y secretada durante la noche (oscuridad). A medida que los días se vuelven más cortos, la exposición del animal a la melatonina aumenta. Ejerce un

efecto estimulante sobre la secreción de GnRH por parte del hipotálamo en los reproductores de días cortos, como las ovejas. En los reproductores de días largos, como el caballo, el aumento en la exposición a la melatonina tiene efecto opuesto: inhibe la secreción de GnRH por parte del hipotálamo. De esta forma, las diferencias en la duración del día son reconocidas y traducidas en forma de señales capaces de "apagar" o "encender" la actividad sexual (Norman y Litwack, 1997; Thiéry *et al.*, 2002).

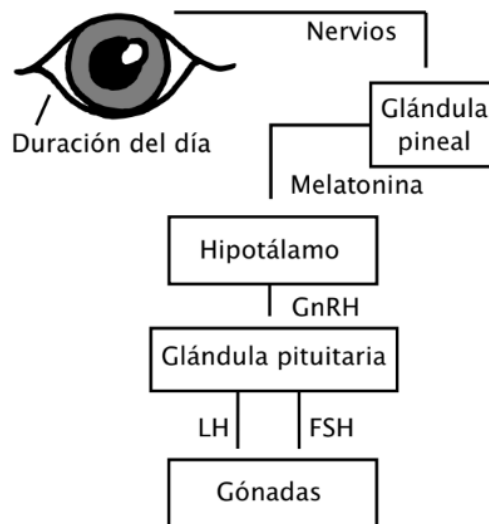


Figura 3. Función de la glándula pineal y de la melatonina en la reproducción (Ptaszynska y Molina, 2007, p.13)

La estacionalidad reproductiva está controlada por las variaciones del fotoperiodo, que inducen cambios en la actividad del eje hipotálamo-pituitario influyendo en la hormona GnRH y LH, que causan los cambios estacionales en el estado reproductivo ovino. Esos cambios se reflejan en diferencias en la sensibilidad a la retroalimentación negativa del estradiol en la circulación (Karsh *et al.*, 1984).

Cuando la duración del día aumenta, la retroalimentación negativa de estradiol aumenta, lo que reduce drásticamente la secreción de GnRH y LH, inhibiendo la ovulación. Por el contrario, cuando la duración del día disminuye, la retroalimentación negativa de estradiol también disminuye, lo que estimula la liberación de gonadotropinas GnRH y LH, que impulsan la gametogénesis y la secreción de la hormona esteroide gonadal tanto en machos como en hembras, por lo tanto, ocurra la ovulación (Martinet *et al.*, 1993; Lincoln, 2002; véase la Figura 4).

En machos, el rendimiento masculino óptimo puede obtenerse durante el periodo de aumento de la duración del día. En fotoperiodo de primavera y verano, tanto la calidad como la cantidad de los espermatozoides fueron más altas que en invierno u otoño (Al Ghalban *et al.*, 2004).

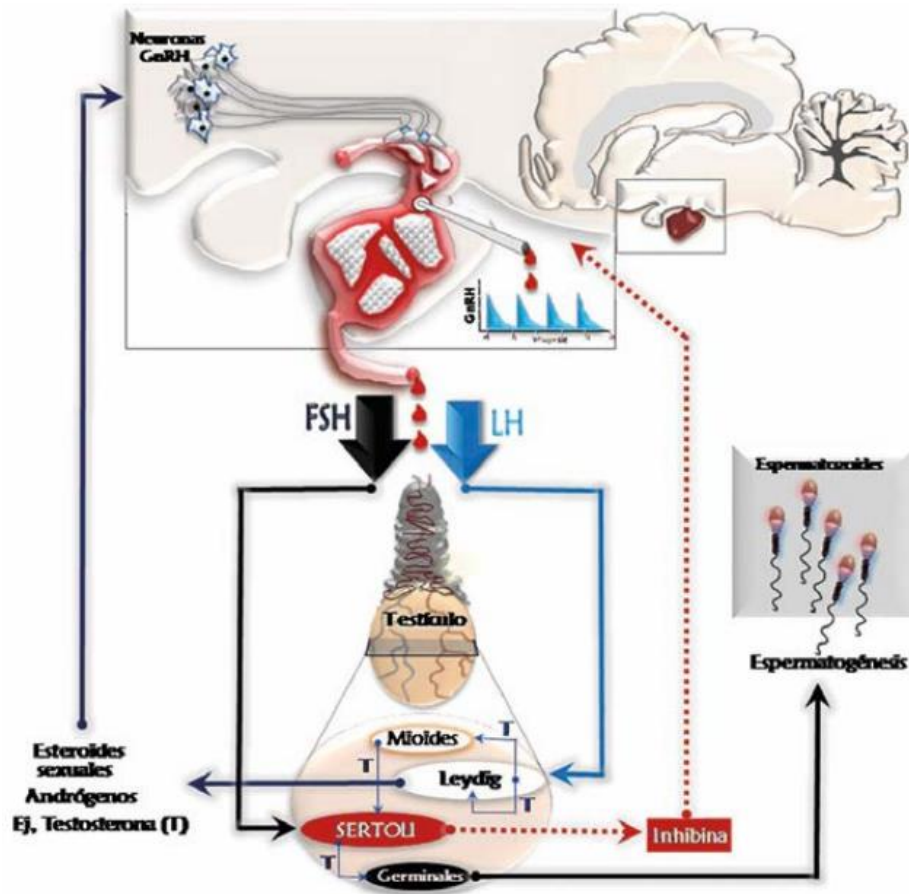


Figura 4. Diagrama que muestra el eje de regulación neuroendocrina del macho. En diversos núcleos cerebrales del hipotálamo y adyacentes a este, se encuentran neuronas productoras y secretoras de la hormona GnRH, que, a su vez, estimula la liberación de las gonadotropinas FSH y LH, procedentes de la adenohipófisis. La FSH viaja por el torrente sanguíneo y actúa sobre las células de Sertoli para estimular, de manera paracrina, a las células germinales para que inicien el proceso de espermatogénesis. Mientras que la LH viaja también a través del torrente sanguíneo y actúa sobre las células de Leydig para producir testosterona. Las células de Sertoli y las células mioides peritubulares poseen receptores de testosterona e intervienen en la espermatogénesis, en el interior de los túbulos seminíferos (tomado de Lezama *et al.*, 2017)

Temperatura ambiental y desempeño sexual en machos

La libido y la calidad seminal en el macho ovino puede variar por la época del año, por ejemplo, en los machos de raza Awassi, la calidad seminal disminuye a

partir de mayo hasta agosto, cuando las condiciones climáticas son cálidas y secas (Ali *et al.*, 2009). Esto coincide con estudios que confirman que el estrés calórico disminuye significativamente el índice de calidad, viabilidad, motilidad y fertilidad de los espermatozoides; y aumenta el porcentaje de espermatozoides muertos como resultado del estrés por calor (McDaniel *et al.*, 1995; Kalamah, 2001). Al igual que, cuando los carneros se someten a temperaturas ambientales constantemente altas, tienen un mayor riesgo de aumentos en la temperatura del escroto y la consiguiente degeneración testicular (Rasooli *et al.*, 2010). Eso puede conducir a disminuir la calidad del semen y causar infertilidad o subfertilidad (García, 2013; Marai *et al.*, 2007).

En un estudio de Xavier *et al.*, (2016) la suplementación con Vit. E y Se en cabras en recuperación por estrés calórico, mantuvo la circunferencia escrotal, mejoró la altura del diámetro tubular y seminífero del epitelio a los 42 d, pero no logró proteger los testículos contra los cambios degenerativos a los 18 d. El selenio más vitamina E agregado al alimento no pudo prevenir la degeneración del parénquima testicular en estos animales. No obstante, la suplementación con ambos antioxidantes aceleró la recuperación de la espermatogénesis después de la lesión térmica (Xavier *et al.*, 2016).

CAPÍTULO 7

Estrés oxidativo por ROS

El estrés oxidativo es una condición celular caracterizada por un desequilibrio entre la producción de ROS y la capacidad de depuración de los antioxidantes.

Cuando la producción de ROS supera el sistema de defensa antioxidante disponible, se produce un daño oxidativo significativo. El estrés oxidativo junto con niveles crecientes de ROS puede causar daño a las células, órganos y tejidos (Aitken *et al.*, 2010) y perjudicar el desempeño productivo y reproductivo (Surai *et al.*, 2019). Las ROS son los subproductos del metabolismo normal de los organismos aeróbicos, radicales libres o moléculas no radicales (Vishwa *et al.*, 2022).

La sobreproducción de ROS puede dañar los lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y el ADN celular (Floyd and Carney, 1992), desencadenando la apoptosis celular en casos graves (Devine *et al.*, 2012), lo que acelera el proceso de apoptosis de células germinales, conduciendo a la disminución del recuento de espermatozoides asociado con la infertilidad. Los espermatozoides son incapaces de reparar el daño inducido por ROS excesivos porque carecen de los sistemas enzimáticos citoplasmáticos necesarios para realizar esta reparación (Shokry *et al.*, 2020). Es por esto también, que la infertilidad de los animales relacionada con la edad se ha atribuido al efecto adverso de las especies reactivas de oxígeno (Agarwal *et al.*, 2005).

Un metabolismo acelerado bajo condiciones de estrés tiende a formar niveles elevados de radicales libres (en particular, las ROS) que conducen a estrés por oxidación. La generación de especies reactivas de oxígeno es la principal causa de deterioro de espermatozoides de carneros durante la criopreservación, ya que daña las membranas de la mitocondria de los espermatozoides (Alvarez y Storey, 1993) mediante un proceso llamado peroxidación lipídica (PL), proceso fisiopatológico que

tiene como resultado una cascada de cambios degenerativos profundos que afectan la organización y la función de la membrana espermática (Tortolero *et al.*, 2005). Además, las membranas plasmáticas del espermatozoide de rumiante son más susceptibles a la peroxidación lipídica porque son ricos en ácidos grasos poliinsaturados (Bucak *et al.*, 2009). El estrés oxidativo es una consecuencia de la generación de ROS y/o o mecanismos de defensa antioxidantes deteriorados que conducen a la peroxidación lipídica de membranas y daño celular de los espermatozoides (Mahanta *et al.*, 2012). Por lo tanto, un equilibrio entre la producción de ROS y el sistema antioxidante debe establecerse para mantener la viabilidad y fertilidad de los espermatozoides (Surai, 2002).

Un estudio reciente de Naskar (2018) y Mohammed *et al.*, (2020) determinaron que la adición *in vitro* de compuestos de especies reactivas de nitrógeno (RNS) en concentraciones óptimas tanto en semen fresco como criopreservado promueve la integridad funcional del espermatozoide y reduce el deterioro en el semen congelado y descongelado. Las concentraciones fisiológicas de ROS o RNS tienen efectos positivos sobre la función espermática (Vishwa *et al.*, 2022).

Antioxidantes

Los antioxidantes juegan un papel importante en la prevención del estrés oxidativo. Manifiestan mecanismos importantes *in vitro* e *in vivo* al romper la reacción en cadena oxidativa o al apagar directamente los radicales libres, lo que facilita el mantenimiento de la homeostasis celular. Estos se pueden evaluar en dos grupos: preventivos o conservantes y secuestrantes. Mientras que los antioxidantes

preventivos son compuestos tales como proteínas de unión a metales que evitan la nueva formación de ROS, los antioxidantes secuestrantes son compuestos que eliminan las ROS preformadas (Agarwal *et al.*, 2004).

Durante el tránsito por el epidídimo, los espermatozoides sufren transformaciones morfológicas y bioquímicas, como resultado, las enzimas antioxidantes citosólicas permanecen en cantidades bajas en los espermatozoides en maduración, proporcionando una protección antioxidante mínima. El plasma seminal tiene sus propios antioxidantes enzimáticos, incluido el superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa y moléculas antioxidantes no enzimáticas como vitamina C, vitamina E, glutatión reducido y carnitina (Agarwal *et al.*, 2003). Estas enzimas y moléculas previenen la peroxidación lipídica (Mahanta *et al.*, 2012).

MATERIALES Y MÉTODOS

General

Todos los métodos y manejo de las unidades experimentales utilizadas en este estudio fueron en estricto acuerdo con los lineamientos para el uso ético, cuidado y bienestar de animales en investigación a nivel internacional (FASS, 2010) y nivel nacional (NAM, 2002) con número de referencia de aprobación institucional UAAAN-UL con clave 38111- 425501002-2706.

Localización del área experimental y condiciones ambientales

El estudio se realizó durante la época de verano (junio-julio) en el año 2020 en el norte de México (25° 32' 40" N, 103° 26' 33" W) bajo un sistema de producción ovino intensivo. El clima de la región es semidesértico, con una precipitación media anual de 230 mm. La humedad relativa oscila entre 26 y 61 %; los rangos de fotoperiodo de 13 h 41 min. Durante el solsticio de verano (junio) a 10 h 19 min. Durante el solsticio de invierno (diciembre); una temperatura que oscila entre 6 °C en invierno y 37 °C en verano (CONAGUA, 2015).

Manejo general de los animales

Se utilizaron 10 carneros de la raza Dorper de entre dos y cuatro años. Antes del inicio de los tratamientos, los carneros fueron identificados individualmente, se registraron peso vivo (PV), condición corporal (CC), intensidad de olor (IO) y circunferencia escrotal (CE) en intervalos de siete días durante el periodo experimental. El PV se midió utilizando una báscula digital con capacidad de 400 kg y división de 0.1 kg (Torrey, Modelo Eqm-400). La CC se midió mediante palpación dorsal, variando desde la escala de 1 (muy delgado) hasta 5 (muy gordo) [Russel 1984]. La medición de la IO se registró oliendo por encima de la base de la cabeza del carnero a una distancia de ocho a 10 cm, como lo describe Walkden-Brown *et al.*, (1994), asignando una puntuación de 0 (olor a la hembra) a 3 (olor potente como lanolina). Mientras que la medición de la CE se consideró la medida de la parte más ancha de los testículos utilizando una cinta métrica flexible (Cruz-Castrejon *et al.*, 2007). Se utilizaron 34 ovejas nulíparas anovulatorias de la raza Dorper de entre ocho y 10 meses. En las cuales se registró el PV y la CC. Durante el periodo experimental, que duró de junio a julio, todos los animales fueron alimentados con

sobrantes de alimentos de una unidad de vacas lecheras Holstein que contenía 11.0 % de PC y 69.0 % de MS. Los animales fueron alimentados dos veces al día (8:00 y 14:00 h) y tuvieron libre acceso al alimento, agua limpia, sales minerales y corrales provistos de sombras. Antes del inicio del experimento, todos los animales se mantuvieron aislados de la vista y el olfato del sexo opuesto.

Tratamiento de los machos

Los carneros se separaron en dos grupos ($n = 5$ cada uno) homogéneos en cuanto a PV, CC, IO y CE (78 ± 2.45 kg, 3 ± 0.52 unidades, 0.5 ± 0.13 unidades, 36.1 ± 0.92 cm respectivamente). Se asignaron aleatoriamente a los siguientes dos tratamientos con un periodo experimental de 28 días:

- i) Grupo selenio más vitamina E [GT, inyección IM de 1 mg +70 UI+ 0.2 mg x kg PV, (Seleben-E, Laboratorios Maymó, S.A. Barcelona España)] aplicado cada 7d x 28d,
- ii) Grupo control (GC, inyección IM de 1 mL de solución salina fisiológica cada 7d x 28d).

Manejo de las hembras

Las ovejas se separaron en dos grupos ($n = 17$ cada uno) homogéneos en cuanto a PV y CC (37 ± 0.92 kg, 3 ± 0.43 unidades, respectivamente). Se sometieron a dos ecografías en tiempo real con siete días de diferencia para evaluar el estado ovárico y confirmar la anovulación utilizando un ultrasonido (Aloka SSD-500) con un transductor de 7,5 MHz (Aloka; Corometrics Medical Systems, Inc., Wallingford, CT). Posteriormente, y con el fin de prevenir ciclos cortos, un total de 60 mg de

progesterona (Progesterona 50 mg, Lab Brovel, México) se aplicó vía IM distribuida en tres dosis de 20 mg en los días -6, -4 y -2 antes del contacto con los carneros tratados (Calderón-Leyva *et al.*, 2018).

VARIABLES EVALUADAS: Efecto macho

Al finalizar los tratamientos de los carneros se seleccionaron aleatoriamente seis machos, tres de cada grupo experimental, machos previamente tratados con selenio más vitaminas E (GT) y del grupo control de solución salina (GC) y fueron introducidos inmediatamente en dos corrales con ovejas anovulatorias nulíparas (17 c/u) asignadas aleatoriamente (es decir, tres machos: 17 hembras) para evaluar el efecto macho. Los machos de cada grupo fueron rotados dentro del mismo grupo de hembras, por la mañana y tarde, de tal manera que, se evitara algún sesgo.

Respuesta de comportamiento sexual en carneros.

Se registraron los comportamientos sexuales de los carneros durante una hora consecutiva (8:00 y 18:00 h) durante los primeros dos días del periodo experimental. Los registros de frecuencias del CSA, CSC e IDS se describen previamente por Calderón-Leyva *et al.*, (2017). Por lo tanto, se evaluó el comportamiento sexual de los carneros tratados con Selenio más vitamina E y la interacción respecto al grupo control sobre la exposición a ovejas Dorper nulíparas anovulatorias.

Respuesta sexual y reproductiva de ovejas

La actividad estral de las hembras se determinó por observación directa de los grupos, dos veces al día (en la mañana de 7:00 a 8:00 h y en la tarde de 18:00 a

19:00 h) durante siete días consecutivos después de la introducción del carnero. Se determinó la duración del estro, que consistió en registrar las horas en que la oveja permaneció quieta y se dejó montar por el macho (CSC), hasta el momento en que ya no aceptó la monta y se determinó en horas. Todas las observaciones fueron realizadas por el mismo técnico capacitado (Perkins y Roselli, 2007). El intervalo de inicio del estro se refiere al período de tiempo entre el contacto inicial macho-hembra hasta que se permite la primera cópula o monta. A partir de entonces, se cuantificó la actividad ovulatoria registrando el número de ovejas con la presencia de al menos un cuerpo lúteo en cada ovario y se determinó el día 10 después de la introducción del carnero mediante una exploración ecográfica transrectal en tiempo real (Aloka SSD-500; Corometrics Medical Systems, Inc., Wallingford, CT) utilizando el transductor de 7,5 MHz., mientras que el diagnóstico de preñez para detectar la presencia de embriones en la cavidad uterina se realizó a los 45 días. El diseño experimental se muestra en la Figura 5.

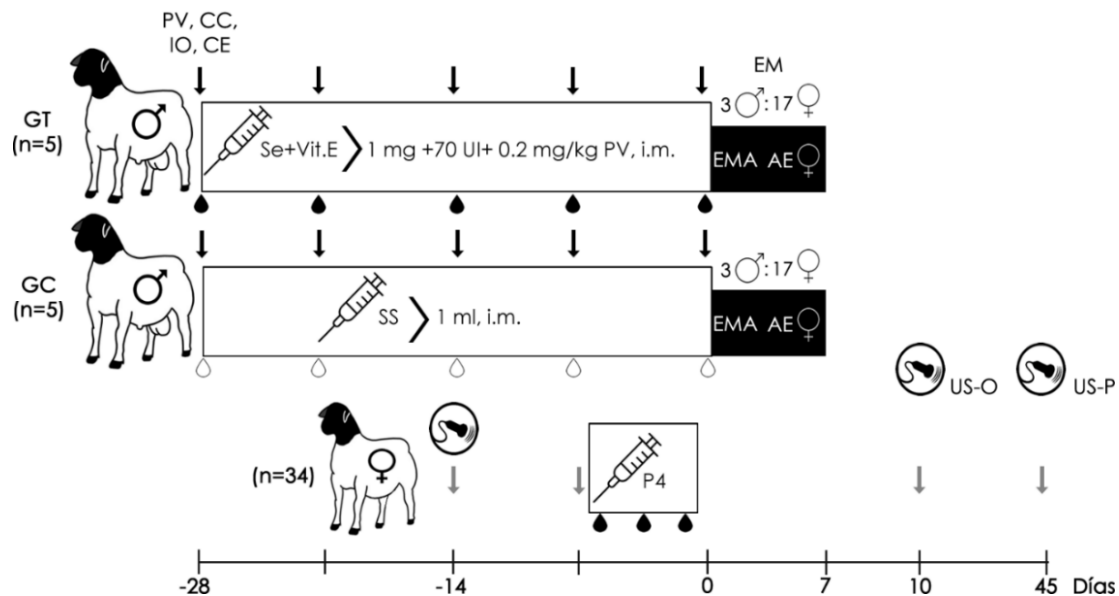


Figura 5. Carneros Dorper (n=10) fueron tratados con selenio más vitamina E (**GT**) y solución salina fisiológica (**GC**) durante 28 días; el peso vivo (**PV**), la condición corporal (**CC**), intensidad de olor (**IO**) y la circunferencia escrotal (**CE**) fueron medidas a lo largo del tiempo antes del inicio de los tratamientos y se registraron en intervalos de una semana hasta el final de estos. Las hembras nulíparas anovulatorias Dorper (n=34) se sometieron a dos ecografías (-14 y -7 días) para confirmar anovulación, y con el fin de prevenir ciclos estrales cortos se les aplicó un total de 60 mg de progesterona distribuida en tres dosis de 20 mg en los días -6, -4 y -2. Para evaluar el efecto macho (**EM**, día 0), y una vez finalizado los tratamientos de los carneros, las ovejas nulíparas anovulatorias fueron asignadas aleatoriamente a uno de los dos grupos experimentales (n = 17 cada uno) y se colocaron en diferentes corrales. Cada grupo de ovejas se expuso a tres carneros tratados (n = 3) de cada grupo experimental [Escenario multi anovulatorio (**EMA**); 3 machos: 17 hembras]; se registraron los comportamientos sexuales de los carneros durante una hora consecutiva durante dos días (es decir, 1 h x 48 h). Además, desde el primer día al exponerse a los machos, se determinó la actividad estral de las hembras (**AE**) durante siete días. Luego, se determinó la actividad ovulatoria de la oveja el día diez después de la introducción del carnero mediante una exploración ecográfica transrectal en tiempo real (**US-O**) mientras que otra exploración ecográfica fue realizada el día 45 para diagnosticar la presencia de embriones en la cavidad uterina (**US-P**).

Análisis estadístico

Se analizaron los datos mediante un análisis de varianza (ANOVA), utilizando el procedimiento Modelo Lineal General (GLM). Las medias obtenidas de duración del estro (h), intervalo del inicio del estro, número y diámetro de cuerpos lúteos fueron comparadas usando una ANOVA y si se encontraran diferencias serán comparadas por medio de una prueba de t-student. El porcentaje de hembras en estro y ovulación y porcentaje de preñez fueron comparados a través de una Chi-cuadrada. Todos los datos fueron analizados utilizando el paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc. Cary. NC. USA, V9.1). Las diferencias serán consideradas significativas a un valor de $P \leq 0.05$.

RESULTADOS

La Figura 6 muestra las medias de PV (79 ± 1 kg), IO (0.6 ± 0.1 unidades), CC (2.8 ± 0.1 unidades) y CE (36.3 ± 0.4 cm), no ocurrieron diferencias significativas entre ambos grupos ($P > 0.05$). En contraste CE difirió entre los tratamientos ($P < 0.01$); GT generó valores más altos (37 ± 1 kg) en comparación con GC (35 ± 1 kg), respectivamente.

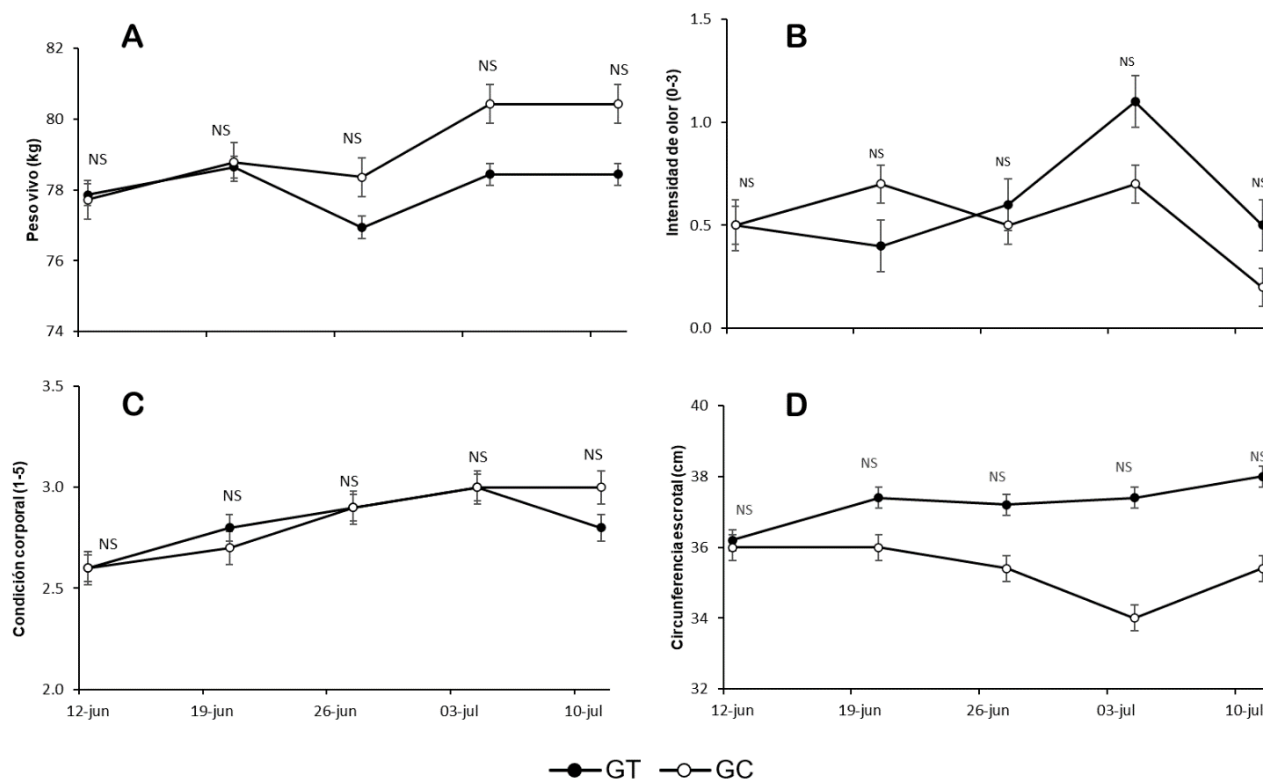


Figura 6. Medias de A) Peso vivo (kilogramos), B) Intensidad de olor (unidades escala 0-3), C) Condición corporal (unidades escala 1-5) y D) Circunferencia escrotal (cm) (media \pm S.E.M.) medido a lo largo del tiempo de estudio en carneros Dorper ($n=10$; 5 por grupo experimental) tratados con selenio más vitaminas E (GT) y solución salina (GC) bajo fotoperiodo natural a 26° de latitud norte.

En la Tabla 2 se muestran los valores de las variables de respuesta de ambos grupos sobre el comportamiento sexual de los carneros expuestos a las ovejas Dorper anovulatorias nulíparas. En las variables analizadas no se observaron

diferencias significativas en CSA (40 vs 60; $P > 0.05$), así como en CSC (43 vs 57; $P > 0.05$) e IRS (54 vs 46; $P > 0.05$). Sin embargo, cuando los carneros fueron expuestos a las hembras, GC mostraron mayores frecuencias ($P > 0.05$) en las variables de respuesta de olfateo anogenital (417 vs 687), pataleo (45 vs 78), vocalización (64 vs 195) y Flehmen (97 vs 155) en relación con el GT.

Tabla 2. Frecuencia de comportamiento sexual apetitivo (CSA), consumatorio (CSC) y de reposo (IRS) de carneros raza Dorper ($n=10$) tratados con selenio más vitamina E (GT) y solución salina fisiológica (GC) y expuestos a hembras nulíparas anovulatorias de la raza Dorper ($n=34$) durante la temporada de descanso reproductivo bajo fotoperíodo natural a 26° latitud norte*.

Carnero (n)	GT (5)	GC (5)	Valor de <i>P</i>
CSA (%)	40	60	0.155
Olfateo anogenital (n)	417	687	0.000
Aproximación (n)	213	189	0.385
Pataleo (n)	45	78	0.034
Vocalización (n)	64	195	0.000
Flehmen (n)	97	155	0.009
Desenvaine (n)	38	23	0.173
Total (n)	874	1327	0.000
CSC (%)	43	57	0.321
Intentos de monta (n)	9	8	0.866
Montas con penetración (n)	0	0	1.000
Montas con desenvaine (n)	0	4	0.102
Montas con eyaculación (n)	0	0	1.000
Total (n)	9	12	0.647
IRS (%)	54	46	0.571
Aislamiento de pie (n)	24	32	0.449
Aislamiento echado (n)	2	6	0.302

Intentos de huida (n)	1	0	1.000
Distracciones externas (n)	24	9	0.060
Agresiones (n)	3	0	0.171
Total (n)	54	47	0.623

Las respuestas sexuales y reproductivas de las ovejas expuestas al efecto macho se muestran en la Tabla 3. No hubo diferencias significativas ($P > 0.05$) entre grupos.

Tabla 3. Respuesta sexual y reproductiva de ovejas nulíparas de raza Dorper expuestas a carneros previamente tratados con selenio más vitamina E (GT) y solución salina (GC) a 26° latitud norte bajo fotoperiodo natural. a, b, c = Los valores con diferentes literales en la misma fila difieren ($P < 0.05$).

<i>Variables evaluadas</i>	<i>Grupos</i>	
	GT; n=17	GC; n=17
Ovejas en estro (%)	(82)14/17 ^a	82 14/17 ^a
Duración del estro (h)	32.6±3.11 ^a	28.3±3.35 ^a
Ovejas con estro y ovulación (%)	(82)14/17 ^a	76 13/17 ^a
Total de cuerpos lúteos (n)	1.1±0.1 ^a	1.2±0.11 ^a
Diámetro de cuerpo lúteo (mm)	10.5±0.50 ^a	11.1±0.28 ^a
Preñez (%)	(53) 9/17 ^a	65 11/17 ^a

El porcentaje acumulado de ovejas nulíparas anovulatorias que muestran comportamiento de estro una vez expuestas a carneros de los dos grupos experimentales, se muestra en la Figura 7. No se detectó un efecto del tratamiento dentro de los siguientes 10 días después de la introducción del macho.

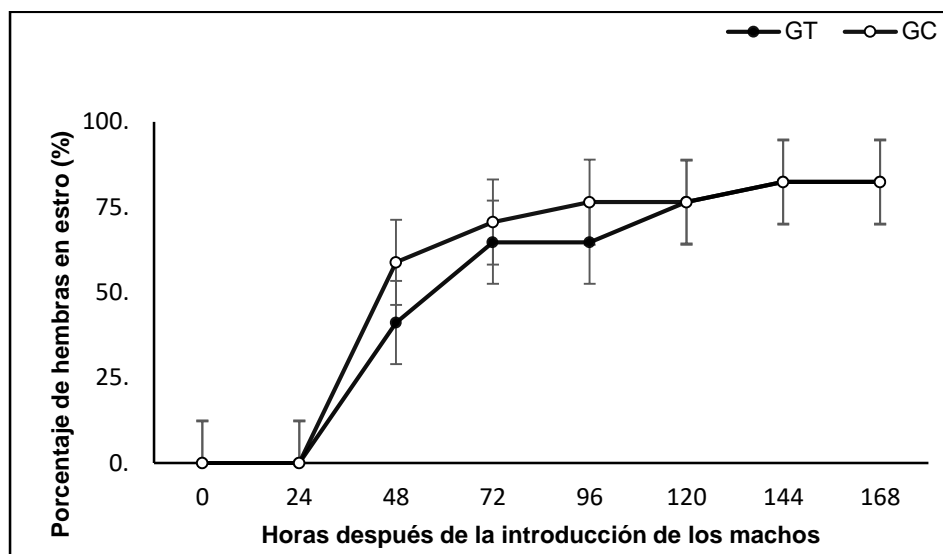


Figura 7. Porcentaje de ovejas que presentaron comportamiento estral a lo largo del período experimental de 34 ovejas nulíparas de la raza Dorper ($n = 34$; 17 por tratamiento) expuestas a carneros Dorper ($n = 6$, 3 por tratamiento) tratados con selenio más vitamina E (GT) y solución salina (GC) durante la temporada de descanso reproductivo bajo fotoperiodo natural a 25° latitud norte.

DISCUSIÓN

Nuestra hipótesis de trabajo incluyó probar que la administración intramuscular de Se en combinación con Vit. E en carneros de la raza Dorper durante la época reproductiva aumentaría su comportamiento sexual, lo que haría que estos machos tuvieran un mayor desempeño reproductivo y, por lo tanto, que daría como resultado una mayor estimulación recibida por las hembras nulíparas anovulatorias, induciendo a su vez una mayor respuesta estral y ovulatoria.

Los resultados del presente estudio indican que la respuesta estral y ovulatoria de las ovejas nulíparas de la raza Dorper a través del “efecto macho” utilizando carneros tratados con Se en combinación con la Vit. E fue similar a las del GC. Por lo tanto, no se acepta nuestra hipótesis planteada al inicio del estudio. Nuestros resultados son contrarios a los encontrados en otros estudios que muestran que la aplicación de Se y Vit. E estimulan un mayor libido y mayor desempeño reproductivo en el macho (Bearden y Fuquay, 1997; Oluboyo *et al.*, 2012; Gamal *et al.*, 2013).

Es probable que la respuesta estral de las hembras expuestas a los machos del GT se deba al tiempo de tratamiento de los machos, ya que no fue suficiente para estimular un mayor comportamiento sexual.

En cuanto al comportamiento sexual de los carneros de ambos grupos expuestos a las ovejas Dorper anovulatorias nulíparas, no se observaron diferencias significativas. En efecto, se ha demostrado que para que un macho induzca una buena repuesta estral este debe mostrar > 80 % del comportamiento sexual (Véliz *et al.*, 2006). Lo anterior, debido que las concentraciones de testosterona plasmática y los niveles de LH aumentan significativamente en machos tratados con selenio

más vitamina E (Ali *et al.*, 2009; Ghorbani *et al.*, 2017). Sin embargo, los carneros del GC mostraron mayores frecuencias en las variables de respuesta de olfateo anogenital, pataleo, vocalización y Flehmen en relación con el GT. Contrario con lo mencionado por Bearden y Fuquay (1997), quienes demostraron que el tratamiento con Vit E y Se conduce a un aumento del nivel de testosterona que tiene un efecto directo sobre el carácter sexual secundario. Cuando la producción de testosterona aumenta, los carneros generalmente se vuelven más activos sexualmente que los carneros con bajo nivel de testosterona o sexualmente inactivos (Stellflug *et al.*, 2004).

El aumento significativo en las medidas de la circunferencia escrotal en el GT pudiera reflejar la correlación positiva entre el tamaño testicular y la producción de espermatozoides si se hubiera analizado la calidad seminal de los carneros. En concordancia con el trabajo de Behne y Weiler (1996), donde un aumento de la circunferencia escrotal muestra un efecto beneficioso del Se como antioxidante que participa en la estabilidad de las membranas celulares, el proceso de crecimiento celular y la morfología testicular. También ha sido documentado que los cambios en el tamaño testicular están estrechamente relacionados con la producción de testosterona (El-Zelaky *et al.*, 2011).

Por otra parte, se conoce que la aplicación de Se, mejora el desarrollo de los túbulos seminíferos y la espermatogénesis (Ali *et al.*, 2009; Chabory *et al.*, 2010), mejorando también las características seminales y reduciendo el porcentaje de espermatozoides muertos y con anomalías o daños en el acrosoma (Ahsan *et al.*, 2014). Además, aumenta las concentraciones de testosterona y hormona

luteinizante en cabritos Saanen (Mojapelo y Lehloenya, 2019). Ayuda a la biosíntesis de testosterona, la cual está relacionada con la libido y las concentraciones séricas de testosterona (Ghorbani *et al.*, 2017), la cual es responsable de estimular el comportamiento sexual en el macho.

Otra probable causa que pudo afectar el desempeño reproductivo de los carneros pudo deberse al intervalo de tratamiento y dosis utilizadas en nuestro tratamiento. En efecto, en carneros Awassi tratados con 175 mg de vitamina E o 70 mg de vitamina E más 2800 mg de Se en intervalos de 12 horas durante 90 días mostraron un claro efecto positivo sobre las características seminales, así como un mayor desempeño reproductivo en comparación con los carneros no tratados (Ali *et al.*, 2009). En carneros Ossimi, la combinación de Se y Vit. E a una dosis de 5 mg de selenito de sodio y 450 mg de Vit. E en intervalos de dos veces por semana durante 30 días, mejoró el rendimiento reproductivo y las características del semen (Gamal *et al.*, 2013). Otros resultados han demostrado que la inyección de selenito de sodio en combinación con vitamina E dos veces por semana durante un mes dio como resultado concentraciones de glutathion peroxidasa (GSHpx) y la testosterona sérica fueran más altas en los carneros tratados. Sin embargo, los mecanismos subyacentes exactos que regulan la producción de testosterona aún no están claros y requieren mayor comprensión. Dado que la testosterona es producida por las células de Leydig, podrían servir como modelo objetivo potencial para investigar más a fondo tales mecanismos de modulación de la síntesis de testosterona relacionada con el Se (Shi *et al.*, 2017). Por otro lado, se ha demostrado que el Se tiene un papel regulador potencial en algunas funciones celulares esenciales (Liu *et al.*, 2014).

En cuanto a los resultados encontrados en este estudio respecto a la actividad reproductiva que no mostró diferencias estadísticas, probablemente estén involucrados otros factores de tipo ambiental como, por ejemplo, el fotoperiodo, época del año ya que se conoce que estos factores tienen un efecto marcado sobre la actividad reproductiva en ovejas en diferentes latitudes (Arroyo, 2011). La libido y la calidad seminal en el macho ovino puede variar por la época del año, por ejemplo, en los machos de raza Awassi, la calidad seminal disminuye a partir de mayo hasta agosto, cuando las condiciones climáticas son cálidas y secas (Ali *et al.*, 2009). En efecto, el fotoperiodo es la señal ambiental clave que modula la función reproductiva en machos y hembras de las zonas templadas, siendo el fotoperiodo el principal factor ambiental de generar la actividad reproductiva o inactividad de la función reproductiva (Bustos y Torres-Díaz, 2012; Migaud *et al.*, 2015).

CONCLUSIÓN

Los resultados bajo las condiciones de este estudio nos permiten concluir que los machos tratados con Se más la combinación de Vit. E no mejoraron la respuesta reproductiva de las ovejas nulíparas a través del “efecto macho”, y no hubo diferencias significativas en los componentes del comportamiento sexual de los machos tratados al ser expuestos a las hembras. Estos resultados sugieren que la duración de los tratamientos debe ser por un periodo más prolongado.

BIBLIOGRAFÍA

- Abd AH, Revilla VA, López AR, Ramírez BE, Tortora PJ (2007) The relationship between fetal and maternal selenium concentrations in sheep and goats. *Small Rum. Res.* 73:174-180.
- Abdel-Khalek AE, Yousef MM, El-Hawary AF (2010) Sexual Desire, Testicular Measurements and semen quality of buffalo bulls treated with combinations Of trace elements and vitamin E. *J. of Animal and Poultry Production*, Vol. 1 (3): 97 – 107.
- Abecia JA, Keller M, Palacios C, Chemineau P, Delgadillo JA (2019) Light-induced sexually active rams prevent the seasonal inhibition of luteinizing-hormone in ovariectomized estradiol-implanted ewes. *Theriogenology* 136 (2019) 43e46. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.06.032>.
- Agarwal A, Nallella KP, Allamaneni SS, Said TM (2004) Role of antioxidants in treatment of male infertility: An overview of the literature. *Reproductive Biomedicine Online*, 8(6), 616–627. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)61641-0](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)61641-0)
- Agarwal A, Prabakaran SA, Said TM (2005) Prevention of oxidative stress injury to sperm. *Journal of Andrology*, 26: 654–660.
- Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA (2003) Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 2003;79(4):829e43.

Ahmad N, Noakes DE, Wilson CA (1996) Secretory profiles of LH and testosterone in pubescent male goat kids. *Small Rumin Res* 1996.

[https://doi.org/10.1016/0921-4488\(95\)00818-7](https://doi.org/10.1016/0921-4488(95)00818-7).

Ahmed AE, Alshehri A, Al-Kahtani MA, Elbehairi SEI, Alshehri MA, Shati AA, et al (2020) Vitamin E and selenium administration synergistically mitigates ivermectin and doramectin-induced testicular dysfunction in male Wistar albino rats. *Biomed Pharmacol*.

Ahsan U, Kamran Z, Raza I, Ahmad S, Babar W, Riaz MH, Iqbal Z (2014) Role of selenium in male reproduction — A review. *Anim. Reprod. Sci.* 146:55-62.

Aitken RJ, De Iuliis GN, Finnie JM, Hedges A, McLachlan RI (2010) Analysis of the relationships between oxidative stress, DNA damage and sperm vitality in a patient population: Development of diagnostic criteria. *Human Reproduction*, 25(10), 2415–2426. <https://doi.org/10.1093/humrep/deq214>

Aitken RJ, Krausz C (2001) Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome. *Reproduction* 122:497–506. *Reproduction* (2001) 122, 497–506.

Akpa GN, Dim NI, Osinowo OA, Oyedipe EO (1994) Effects of plane of nutrition and rearing method on Yankasa lambs: growth rate, scrotal development. *Vol. 21* (1994). DOI: <https://doi.org/10.51791/njap.v21i1.1149>

Al-Ghalban AM, Tabaa MJ, Kridli RT (2004) Factors affecting semen characteristics and scrotal circumference in Damascus bucks. *Small Ruminant Research*, 53, 141–149.

- Ali AB, Bomboi G, Floris B (2009) Does Vitamin E or Vitamin E plus Selenium improve reproductive performance of rams during hot weather? *Ital J Anim Sci* 2010; 8:743e54. <https://doi.org/10.4081/ijas.2009.743>.
- Allan CB, Lacourciere GM, Stadtman TC (1999) Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. *Annu. Rev. Nutr.* v. 19, p.1-16.
- Almeida AM, Schwalbach LMJ, Cardoso LA, Greyling JPC (2007) Scrotal, testicular and semen characteristics of young Boer bucks fed winter veld hay: The effect of nutritional supplementation. *Small Ruminant Research*, 73(1-3), 216-220.
- Álvarez JG, Storey BT (1993) Evidence that membrane stress contributes more than lipid peroxidation to sublethal cryodamage in cryopreserved human sperm: glycerol and other polyols as sole cryoprotectant. *J Androl* 1993;14(3): 199e209.
- Álvarez L, Zarco LA (2001) Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Veterinaria México*, vol. 32, núm. 2, abril-junio, 2001, pp. 117-129
- Ammerman CB, Miller SM (1975) Selenium in ruminant nutrition: Review. *J. Dairy Sci.* v. 58, n.10, p. 1561-1571.
- Ángel-García O, Meza-Herrera CA, Guillen-Muñoz JM, Carrillo-Castellanos E, Luna-Orozco JR, et al. (2015) Seminal characteristics, libido and serum testosterone concentrations in mixed-breed goat bucks receiving testosterone during the nonbreeding period. *Journal Applied Animal Research*. 43: 457–461.

- Arova KB, Gresakova L, Faix S, Levtuk MLL (2003) Original article Urinary selenium excretion in selenite-loaded sheep and subsequent Se dynamics in blood constituents. *Reprod Nutr Dev* 2003; 43:385e93.
- Arroyo J (2011) Estacionalidad reproductiva de la oveja en México. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 14(3), 829-845.
- Arroyo LJ, Gallegos-Sánchez J, Villa-Godoy A, Berruecos JM, Perera G, Valencia J (2007) Reproductive activity of Pelibuey and Suffolk ewes at 19° north latitude. *Animal Reproduction Science*. 102: 24-30.
- Azawi OI, Hussein EK (2013) Effect of vitamins C or E supplementation to tris diluent on the semen quality of Awassi rams preserved at 5 C. *Veterinary Research Forum*. Urmia, Iran: Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University.
- Azevedo J, Valentim R, Correia TM (2006) Control Hormonal De La Actividad Ovárica En Ovinos. *Albéitar*, (98), 6-8.
- Aziz ES, Klesius PH, Frandesen JC (1984) Effect of selenium on polymorphonuclear leukocyte function in goats. *Am. J. Vet. Res.* 45:1715.
- Bailos AM (2018) Pubertad en ovino. Tesis de grado. Universidad Zaragoza. España.
- Baiomy AA, Mohamed AE, Mottelib AA (2009) Effect of dietary selenium and vitamin E supplementation on productive and reproductive performance in rams. *BS. VET. MED. J. JANUARY 2009 VOL. 19, NO.1, P. 39-43.*

- Barth AD, Brito LFC, Kastelic JP (2008) The effect of nutrition on sexual development of bulls. *Theriogenology*; 70:485e94.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.031>.
- Bearden HJ, Fuquay JW (1997) *Applied Animal Reproduction*. 4th ed. Pentice Hall, Upper Saddle River, NJ, USA.
- Beckett GJ, Arthur JR (2005) Selenium and endocrine systems. *J. Endocrinol*; 184: 455-461.
- Behne D, Kyriakopoulos A (2001) Mammalian selenium-containing proteins. *Annu. Rev. Nutr.* 21:453-473.
- Behne D, Weiler H, Kyriakopoulos A (1996) Effects of selenium deficiency on testicular morphology and function in rats. *Reproduction*; 106:291-297.
- Bezerra FQG, Aguiar Filho CR, Frietas Neto LM, Santos Junior AR, Chaves RM, Azevedo EMP, et al. (2009) Body weight, scrotal circumference and testosterone concentration in young Boer goat males born during the dry or rainy seasons. *S Afr J Anim Sci*;39:301e6.
- Boscós CM, Samartzi FC, Dellis S, et al. (2002) Use of progestagengonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. *Theriogenology*, v.58, p.1261-1272.
- Braun WF, Thompson JM, Ross CV (1980) Ram Scrotal Circumference Measurements. *Theriogenology*; 13:221-229.

- Brown DG, Burk RF (1973) Selenium retention in tissues and sperm of rats fed a torula yeast diet. *J. Nutr.* 102, 102–108.
- Brunet AG, Santiago-Moreno J, Toledano-Diaz A, López-Sebastián A (2011) Reproductive seasonality and its control in Spanish sheep and goats. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15(S1).
- Bucak MN, Sarıözkan S, Tuncer PB, Ulutas PA, Akçada HI (2009) Effect of antioxidants on microscopic semen parameters, lipid peroxidation and antioxidant activities in Angora goat semen following cryopreservation. *Small Rumin Res* 2009;81(2e3):90e5.
- Burk RF (1991) Molecular biology of selenium with implications for its metabolism. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 5:2274–9
- Bustos OE, Torres-Diaz L (2012) Reproducción estacional en el macho. *Int J Morphol.* 30:1266-1279.
- Butt MA, Shahid MQ, Bhatti JA, Khalique A (2019) Effect of dietary vitamin E and selenium supplementation on physiological responses and reproductive performance in Holstein Friesian bulls during humid hot summer. *Pak Vet J*; 39:593e7. <https://doi.org/10.29261/pakvetj/2019.053>.
- Calderón-Leyva G, Meza-Herrera CA, Martínez-Rodríguez R, Ángel-García O, Rivas-Muñoz R, Delgado-Bermejo JV, Véliz-Deras FG (2018) Influence of sexual behavior of dorper rams treated with glutamate and/or testosterone on reproductive performance of anovulatory ewes, *Theriogenology*, doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.10.016.

- Calderón-Leyva M, Meza-Herrera C, Arellano-Rodríguez G, Gaytan-Alemán L, Alvarado-Espino A, Gonzalez-Graciano E et al. (2017) Effect of Glutamate Supplementation upon Semen Quality of Young Seasonally Sexual-Inactive Dorper Rams. *Journal Of Animal Research*, 7(3), 419. doi: 10.5958/2277-940x.2017.00062.6.
- Calvin HI, Cooper GW (1979) A specific selenopolypeptide associated with the outer membrane of rat sperm mitochondria. In: D. W. Fawcett and J. M. Bedford (Ed.) *The Spermatozoon*. pp 135–140. Urban & Schwarzenbery, Baltimore, MD.
- Carbajal MA, Vaquí G, Díaz C (2013) Uso de selenio en ovinos. *Abanico Veterinario* Ene-Abr 2013; 3 (1) ISSN 2007-4204
- Carrillo E, Meza-Herrera CA, Olán-Sánchez A, Robles-Trillo PA, Leyva C, Luna-Orozco JR, Rodríguez-Martínez R, Véliz-Deras FG (2014) The “female effect” positively affects the appetitive and consummatory sexual behaviour and testosterone concentrations of Alpine male goats under subtropical conditions. *Czech J. Anim. Sci.*, 59, 2014 (7): 337–343.
- Carrillo-Nieto O, Domínguez-Vara IA, Huerta-Bravo M, Jaramillo-Escutia G, Díaz-Zarco S, Vázquez-Armijo JF et al. (2018) Actividad de GSX-Px, concentración de selenio y calidad del eyaculado en sementales ovinos suplementados con selenio durante la época reproductiva. *Agrociencia*, 52(6), 827-839.
- Cerna C, Porras A, Valencia MJ, Perera G, Zarco L (2000) Effect of an inverse subtropical (19°13' N) photoperiod on ovarian activity, melatonin and

prolactin secretion in Pelibuey ewes. *Animal Reproduction Science*. 60-61: 511-525.

Chabory E, Damon C, Lenoir A, Henry-Berger J, Vernet P, Cadet R, Saez FDJ (2010) Mammalian glutathione peroxidases control acquisition and maintenance of spermatozoa integrity. *J Anim Sci* 2010; 88:1321e31. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2583>.

Chadio SE, Kotsampasi BM, Menegatos JGKD (2005) Effect of selenium supplementation on thyroid hormone levels and selenoenzyme activities in growing lambs. *Biol Trace Elem Res*; 109:145e54. <https://doi.org/10.1385/BTER>.

Chanvallon A, Sagot L, Pottier E, Debus N, François D, Fassier T, Scaramuzzi RJ, Fabre-Nys C (2011) New insights into the influence of breed and time of the year on the response of ewes to the “ram effect.” *Animal*. 2011; 5:1594–604.

Cheng WH, Valentine BA, Lei XG (1999) High levels of dietary vitamin E do not replace cellular glutathione peroxidase in protecting mice from acute oxidative stress. *Journal of Nutrition*, 129: 1951–1957.

Chu FF, Doroshov JH, Esworthy RS (1993) Expression, characterisation and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. *J Biol Chem*. 268:2571-2576.

Chu FF, Esworthy RS (1995) The expression of an intestinal form of glutathione peroxidase (GSHPx-GI) in rat intestinal epithelium. *Arch Biochem Biophys*. 323:288–94

- Combs JGF (1998) The vitamins. Fundamental Aspects in nutrition and Health. (Ed) Academic Press. 2nd
- CONAGUA (2015) Normales climatológicas por estación. Ciudad de México: Servicio Meteorológico Nacional, Comisión Nacional del Agua. <https://smn.conagua.gob.mx/es/>
- Cruz-Castrejón U, Véliz FG, Rivas-Muñoz R, Flores JA, Hernández H, Moreno GD (2007) Response of sexual activity in male goats under grazing conditions to food supplementation and artificial long day treatment. *Técnica Pecuaria en México*, 45(1).
- Delgadillo JA (2011) Environmental and social cues can be used in combination to develop sustainable breeding techniques for goat reproduction in the subtropics. *Animal*. 2011; 5:74–81.
- Delgadillo JA, Gelez H, Ungerfeld R, Hawken PAR, Martin GB (2009) The “male effect” in sheep and goats: revisiting the dogmas. *Behavioural Brain Research*. 200: 304-314.
- Delgadillo JA, Vielma J, Flores JA, Véliz FG, Duarte G, Hernández H (2008) La calidad del estímulo emitido por el macho determina la respuesta de las cabras sometidas al efecto macho. *Tropical And Subtropical Agroecosystems*, 9 (2008):39 – 45.
- Dewi IA, Owen JB, El-Sheik A, Axford RFE, Beigi-Nassiri M (1996) Variation in ovulation rate and litter size of Cambridge sheep. *Anim Sci* 1996: 62: 489-495.

- Domoslawska A, Zdunczyk S, Franczyk M, Kankofer M, Janowski T (2018)
Selenium and vitamin E supplementation enhances the antioxidant status of spermatozoa and improves semen quality in male dogs with lowered fertility. *Andrologia*, e13023. <https://doi.org/10.1111/and.13023>.
- Domoslawska A, Zdunczyk S, Janowski T (2019) Improvement of sperm motility within one month under selenium and vitamin E supplementation in four infertile dogs with low selenium status. *J Vet Res* 63, 293-297, 2019
DOI:10.2478/jvetres-2019-0025.
- Domoslawska A, Zdunczyk S, Niżański W, Jurczak A, Tomasz Janowski T (2015)
Effect of selenium and vitamin E supplementation on semen quality in dogs with lowered fertility. *Bull Vet Inst Pulawy* 59, 85-90, 2015 DOI:10.1515/bvip-2015-0013.
- Donoghue AM, Donoghue DJ (1997) Effects of water and lipid-soluble antioxidants on turkey sperm viability, membrane integrity, and motility during liquid storage. *Poultry Science*, 76: 1440–1445.
- Driscoll DM, Copeland PR (2003) Mechanism and regulation of selenoprotein synthesis. *Ann. Rev. Nutr*; 23: 17-40.
- Duarte G, Flores JA, Malpaux B, Delgadillo JA (2008) Reproductive seasonality in female goats adapted to a subtropical environment persists independently of food availability. *Domest Anim Endocrinol*. 2008; 35:362– 468 70
- Ekermans LG, Schneider JV (1982) Selenium in livestock production: A review. *J. South Afr. Vet. Assoc.* v. 53, n. 4, p.223-228.

- Elhammali NSEA (2014) Pubertal traits of male goats kept on rations supplemented with different protein types. *J Agric Vet Sci*; 7:18e21. <https://doi.org/10.9790/2380-07411821>.
- El-Mokadem MY, Taha TA, Samak MA, Yassen AM (2012) Alleviation of reproductive toxicity of gossypol using selenium supplementation in rams. *J Anim Sci*; 90:3274e85. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4545>.
- El-Sheshtawy RI, Ahmed WM, Zaabal MM, Ali GA, Shalaby SI (2014) Effect of Selenium and /or Vitamin E Administration on Semen Characteristics, Plasma Testosterone Level and some Immunogenetic Constituents in seminal plasma proteins of Baladi Bucks. *Global Veterinaria* 12 (6): 878-884, 2014 ISSN 1992-6197 © IDOSI Publications, 2014 DOI: 10.5829/idosi.gv.2014.12.06.9478.
- El-Zelaky OA, Khalifa EI, Mohamed AH, Bahera K Mohamed, Hussein AM (2011) Productive and reproductive performance of rahmani male lambs. *Egypt J Sheep Goat Sci*; 6:15e24.
- Escott-Stump S (2011) *Nutrición, Diagnóstico y tratamiento*. 7° Edition/Wolters Kluwer Health. USA
- FASS (2010) *Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching*, 3rd ed. Federation Animal Science Society, Savoy, IL, USA. ISBN: 978- 956-14-2161-5.
- Flores JA, Véliz FG, Pérez-Villanueva JA, Martínez de la Escalera G, Chemineau P, Poindron P et al. (2000) Male reproductive condition is the limiting factor

of efficiency in the male effect during seasonal anestrus in female goats.
Biol. Reprod. 62: 1409- 1414.

Frape D (1998) Equine Nutrition and Feeding. (2nd Ed.). Blackwell Science Ltd,
UK.

Gamal B, Mahmouda, Sherief M, Abdel-Raheemb, Hussein HA (2013) Effect of
combination of vitamin E and selenium injections on reproductive
performance and blood parameters of Ossimi rams. Small Ruminant Res.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.12.006>.

Gao YF, Lu W, Jian LY, Machaty Z, Luo HL (2020) Vitamin E promotes ovine
Sertoli cell proliferation by regulation of genes associated with cell division
and the cell cycle. Anim Biotechnol; 10:1e10. [https://doi.org/10.1080/
10495398.2020.1788044](https://doi.org/10.1080/10495398.2020.1788044).

Gardiner CS, Reed DJ (1994) Status of glutathione during oxidant induced
oxidative stress in the preimplantation mouse embryo. Biol. Reprod. 581:
1307-1314.

Georgievskii VI, Annenkov BN, Samokhin VT (1982) Mineral Nutrition. London:
Butterworth, 475 p.

Ghorbani A, Moeini MM, Sourì M, Hajarian H (2017) Influences of dietary selenium,
zinc and their combination on semen characteristics and testosterone
concentration in mature rams during breeding season. Journal of Applied
Animal Research, 46(1), 813-819.

Girard L (1813) Moyens employés avec succès, par M. Morel de Vindé, Membre
de la Société d'Agriculture de Seine et Oise, pour obtenir, dans le temps le

- plus court possible, la fécondation du plus grand nombre des brebis portières d'un trou peau. In: Ephémérides de la Société d'Agriculture du Département de l'Indre pour l'An 1813, Séance du 5 septembre, Chateauroux. France: Département de l'Indre, Cahier VII; 1813. p. 66–8.
- Goehring TB, et al. (1984) Effects of seleniferous grains and inorganic selenium on tissue and blood composition and growth performance of rats and swine. *J. Anim. Sci.* v. 59, p. 725-732.
- Grace ND, Watkinson JH, Martinson PL (1986) Accumulation of minerals by the fetus (es) and conceptus of single and twine-bearing ewes. *Z. J. agric. res;* 29: 207.
- Grant-Maxie M, Robinson WF (2016) In: Anim PD, editor. Mulberry heart disease of swine. 6th ed. London, UK: Elsevier. p. 39–41.
- Harrison JH, Conrad HR (1984a) Effect of selenium intake on selenium utilization by the non-lactating dairy cow. *J Dairy Sci.* v. 67, n. 1, p. 219-223.
- Harrison JH, Conrad, HR (1984b) Effect of dietary calcium on selenium absorption by the non-lactating dairy cow. *J Dairy Sci.* v. 67, n. 8, p. 1860- 1864.
- Harrison JH, Hancock DD, Conrad HR (1984) Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J Dairy Sci.* 67(1):123-132.
- Harrison JH, Hancock DD, Conrad HR (1984) Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow. *J Dairy Sci.* v. 67, n. 1, p.123-132.

- Hefnawy AE, Pérez JT (2008) "Selenio y salud animal" Importancia, deficiencia, suplementación y toxicidad. *Arq. Ciên. Vet. Zool. Unipar, Umuarama*, v.11, n.2, p. 153-165, jul./dez.
- Hemingway RG (2003) The influences of dietary intakes and supplementation with selenium and vitamin e on reproduction diseases and reproductive efficiency in cattle and sheep. *Vet. Res. Commun.* 27, 159-74.
- Hogan JS, Weiss WP, Smith KL (1993) Role of vitamin E and selenium in host defense against mastitis. *J. Dairy Sci.* 76, 2795–2803.
- Husein RH, Ahmed MO, Muhammed SM (2011) Effects of L-Arginine, vitamin E and their combinations on sperms morphology in albino male mice. *Al-Nahrain J Sci*; 14(2):137e43.
- INIFAP (2006) *Prácticas de manejo de ovinos de pelo en la Huasteca*. México. 1° edición.
- James LF, et al. (1992) Suspected phytogenic selenium poisoning in sheep. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* v. 180, p. 1478-1481.
- Jenkins KJ, Hidioglou M (1971) Transmission of selenium as selenite and as selenomethionine from ewe to lamb via milk using selenium-75. *Can. J. Anim. Sci.* v. 51, p. 389-403.
- John RA, McKenzie RC, Beckett GJ (2003) Selenium in the immune system, *J Nutr* 2003 May;133(5 Suppl 1):1457S-9S. doi: 10.1093/jn/133.5.1457S.

- Karakus F, Atmaca M (2016) The effect of ewe body condition at lambing on growth of lambs and colostral specific gravity. *Arch Anim Breed* 59: 107-112. doi: 10.5194/aab-59-107-2016.
- Karsch FJ, Bittman EL, Foster DL, Goodman RL, Legan SJ, Robinson JE (1984) Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Prog. Horm. Res.* 40, 185–232.
- Kaur P, Bansal MP (2004) Effect of experimental oxidative stress on steroidogenesis and DNA damage in mouse testis. *Journal of Biomedical Science*, 11: 391– 397.
- Kaya SO, Gur S, Erisir M, Kandemir FM, Benzer F, Kaya E, et al. (2019) Influence of vitamin E and vitamin E-selenium combination on arginase activity, nitric oxide level and some spermatological properties in ram semen. *Reprod Domest Anim*; 55:162e9. <https://doi.org/10.1111/rda.13601>.
- Kendall N, McMullen S, Green A, Rodway R (2000) The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on trace element status and semen quality of ram lambs. *Anim Reprod Sci*; 62(4):277e83.
- Khalifa T (1997) Effect of vitamin E and zinc supplementation on sexual behaviour and some semen characteristics of buffalo-bulls. Faculty Of Veterinary Medicine. Cairo University (Egypt) (MVSc)Thesis.
- Kim J, Mahan DC (2001) Comparative effects of high dietary levels of organic and inorganic selenium on selenium toxicity of growing –finishing pigs. *J. Anim. Sci.* v. 79, p. 942-948.

- Kim J, Van Soest PJ, Combs Jr GF (1997) Studies on the effects of selenium on rumen microbial fermentation in vitro. *Biol. Trac. Elem. Res.* 56: 203-213.
doi: 10.1007/BF02785393.
- Kincard RL (1995) The biological basis for selenium requirements of animals. *Journal of Animal Science.* 11: 26.
- Kleene KC (1993) The mitochondrial capsule selenoprotein – a structural protein in the mitochondrial capsule of mammalian sperm. In: Burk, R.F. (Ed.), *Selenium in Biology and Human Health*, vol. 7. SpringerVerlag, New York, pp. 135–149.
- Koller LD, Exon JH (1986) The two faces of selenium deficiency and toxicity are similar in animals and man. *Can. J. Vet. Res.* v. 50, n. 3, p. 297-306.
- Kott RW, Ruttle JL, Southward GM (1983) Effects of vitamin E and selenium injections on reproduction and preweaning lamb survival in ewes consuming diets marginally deficient in selenium. *J. animal Sci*; 57: 331-337.
- Kumar N, Garg AK, Dass RS, Chaturvedi VK, Mudgal V, Varshney VP (2009) Selenium supplementation influences growth performance, antioxidant status and immune response in lambs. *Anim Feed Sci Technol* 2009;153:77e87. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.06.007>.
- Langlands JP (1982) Deposition of copper, manganese, selenium and zinc in the ovine fetuses and associated tissues. *aust. J. Agric. Res*; 33:591.
- Langlands JP, Donald GE, Bowles JE, Smith AJ (1986) Selenium excretion in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research.* 37. 201-209.

Lezama A, Cruz-Espinoza F, Pro-Martínez A, Salazar-Ortiz J, Gallegos-Sánchez J (2017) Environmental factors that affect the seminal quality of rams.

Volumen 10, Número 2.

Lin YF, Chang SJ, Yang JR, Lee YP, Hsu AL (2005) Effects of supplemental vitamin E during the mature period on the reproduction performance of Taiwan native chicken cockerels. *British Poultry Science*, 46: 366–373.

Lincoln GA (2002) Neuroendocrine regulation of seasonal gonadotrophin and prolactin rhythms: lessons from the Soay ram model. *Reprod., Suppl.* 59, 131–147.

Lingaas F, Brun E, Frøslie A (1990) Estimates of heritability for selenium and glutathione peroxidase levels in pigs. *J Anim Breed Genet.* 108:48–53.

Liu S, Masters D, Ferguson M, Thompson A (2014) Vitamin E status and reproduction in sheep: potential implications for Australian sheep production. *Animal Production Science*, 54(6), 694-714.

López-Gutiérrez AG, Ramírez-Bribiesca JE, López-Arellano R, Revilla-Vázquez A, Tórtora-Pérez J, Bárcena-Gama JR (2012) Selenium balance in lambs fed organic selenium. 28(2):173-180,2012

Loynachan AT (2012) Mulberry heart disease. *Dis swine*. 10th ed. West Sussex, UK: Wiley-Blackwell Publishing Ltd; p. 192–3

Luna-Orozco JR, Gillen-Muñoz JM, De Santiago-Miramontes MA, García E, Rodríguez-Martínez R, Meza-Herrera CA, et al. (2012) Influence of sexually inactive bucks subjected to long photoperiod or testosterone on the

induction of estrus in anovulatory goats. *Trop Anim Health Prod* 2012; 44:71-75.

Mahan DC, Kim YY (1996) Effect of inorganic or organic selenium at two dietary levels on reproductive performance and tissue selenium concentrations in first-parity gilts and their progeny. *J. Anim. Sci.* v. 74, p. 2711-2718.

Mahan DC, Moxan AL (1984) Effect of inorganic selenium supplementation on selenosis in postweaning swine. *J. Anim. Sci.* v. 58, p. 1216-1221.

Mahan DC, Moxan AL, Cline JH (1975) Efficacy of supplemental selenium in reproductive diets on sow and progeny serum and tissue selenium values. *J. Anim. Sci.* v. 40, p. 624.

Mahanta R, Gogoi A, Chaudhury P, Roy S, Bhattacharyya I, Sharma P (2012) Association of oxidative stress biomarkers and antioxidant enzymatic activity in male infertility of north-East India. *J Obstet Gynaecol India* 2012;62(5): 546e50.

Mahmood N, Hameed A, Hussain T (2020) Vitamin E and selenium treatment alleviates saline environment-induced oxidative stress through enhanced antioxidants and growth performance in suckling kids of beetal goats. *Oxid Med Cell Longev*; 2020:1e16. <https://doi.org/10.1155/2020/4960507>.

Mahmoud GB, Abdel-Raheem SM, Hussein HA (2012) Effect of combination of vitamin E and selenium injections on reproductive performance and blood parameters of Ossimi rams. *Small Rumin Res* 2013;113:103e8. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.12.006>.

- Malpoux B, Viguié C, Skinner DC, Thiéry JC, Chemineau P (1997) Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain Research Bulletin*.44: 431-438.
- Marin-Guzman J, Mahan DC, Chung YK, Pate JL, Pope WF (1997) Effects of Dietary Selenium and Vitamin E On Boar Performance and Tissue Responses, Semen Quality, And Subsequent Fertilization Rates In Mature Gilts. *J. Anim. Sci.*, 75, 2994-3003.
- Marin-Guzman J, Marin-Guzman DC, Mahan R, Whitmoyer (2000) Effect of dietary selenium and vitamin E on the ultrastructure and ATP concentration of boar spermatozoa, and the efficacy of added sodium selenite in extended semen on sperm motility. *J. Anim. Sci.* 78:1544–1550.
- Martin GB, Oldham CM, Cognie Y, Pearce DT (1986) The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams-a review. *Livest. Prod. Sci.* 15219
- Marzec-Wróblewska U, Kamiński P, Łakota P (2012) Influence of chemical elements on mammalian spermatozoa. *Folia Biol (Praha)*, 58(1), 7-15.
- Matos CAP, Thomas DL (1991) Physiology and genetics of testicular size in sheep: a review. *Livest. Prod. Sci.* 32, 1–30.
- McPherson A, Chalmers JS (1984) Methods of selenium supplementation of ruminants. *J. Vet. Rec.* v. 115, p. 544- 546.
- Mehdi Y, Dufrasne I (2016) Selenium in cattle: a review. *Molecules.* 2016;21.

- Migaud M, Butrille L, Batailler M (2015) Seasonal regulation of structural plasticity and neurogenesis in the adult mammalian brain: Focus on the sheep hypothalamus. *Front Neuroendocrin* 2015; 37:146-157.
- Millar WT, Williams KT (1940) Minimum lethal dose of selenium, as sodium selenite, for horses, mules, cattle and swine, *J. Agric. Res.* v. 60, p. 163-173.
- Miranda SG, Purdie NG, Osborne VR, Coomber BL, Cant JP (2011) Selenomethionine increases proliferation and reduces apoptosis in bovine mammary epithelial cells under oxidative stress. *J Dairy Sci*; 94:165e73. [https://doi.org/ 10.3168/jds.2010-3366](https://doi.org/10.3168/jds.2010-3366).
- Mohamed SS, Abdelatif AM, Adam AAG (2012) Effects of exposure to solar radiation on thermoregulation and semen characteristics of sudanese desert rams (*ovis aries*). *Glob Vet* 2012;9:502e7. <https://doi.org/10.5829/idosi.gv.2012.9.4.65180>.
- Mohammed OA, Abdulkareem TA, Ibrahim FF, Al-Zaidi OH, Latif WE, Alwan SH (2020) Effect of adding pentoxifylline and nitric oxide to tris extender on some post-cryopreserved semen attributes of holstein bulls. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences* – 2020:51(2):619-628.
- Mojapelo MM, Lehloenya KC (2019) Effect of selenium supplementation on attainment of puberty in Saanen male goat kids. *Theriogenology* 138 (2019) 9e15. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.06.044>.

- Moslemi MK, Tavanbakhsh S (2011) Selenium–vitamin E supplementation in infertile men: Effects on semen parameters and pregnancy rate. *International Journal of General Medicine*, 4, 99–104.
- NAM (2002) *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Co-produced by the National Academy of Medicine-Mexico and the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International, 1st ed. Harlan Mexico, DF, Mexico. ISBN: 978-0-309-15400-0.
- Naskar S (2018) Impact of oxidative stress and antioxidants on sperm quality in Murrah bulls. National Dairy Research Institute
- Nicholson JW, Mcgzeen RE, Buch RS (1991) Response of growing cattle to supplementation with organically bound or inorganic sources of selenium or yeast cultures. *Can. J. Animal Sci.* v. 71, p. 803-811.
- Norman AW y Litwack G (1997) *Hormones*. 2nd Edn. Academic Press.
- NRC (1983) *se in nutrition*. Rev. ed. National Academy of Sciences. National research Council, Washington, DC.
- Oluboyo AO, Adijeh RU, Onyenekwe CC, Oluboyo BO, Mbaeri TC, Odiegwu CN, et al. (2012) Relationship between serum levels of testosterone, zinc and selenium in infertile males attending fertility clinic in Nnewi, south east Nigeria. *African journal of medicine and medical sciences*, 41, 51-54.
- Orgeur P, Signoret JP (1984) Sexual play and its functional significance in the domestic sheep (*Ovis aries L.*). *Physiol. Behav.* 33, 111–118.

- Oropeza-Moe M, Falk M, Vollset M, Wisløff H, Bernhoft A, Framstad T, Salbu B (2019) A descriptive report of the selenium distribution in tissues from pigs with mulberry heart disease (MHD).
- Ortavant R, Pelletier J, Ravault JP, Thimonier J, Volland-Nail P (1985) Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm mammals. *Oxford Reviews of Reproductive Biology*, vol. 7. University Press, Oxford, pp. 305–345
- Osinowo OA, Abubakar BY, Adewuyi AA, Onifade OS, Denny PO (1991) Estimates of genetic and phenotypic parameters of birth weight, weaning weight and pre-weaning gain in Yankasa sheep. Proc. 16th Annual Conference of the Nigerian Society for Animal Production, Usman Danfodiyo University, Sokoto, Nigeria.
- Ozer-Kaya S, Gur S, Erisir M, Mehmet-Kandemir F, Benzer F, Kaya E, et al. (2020) Influence of vitamin E and vitamin E-selenium combination on arginase activity, nitric oxide level and some spermatological properties in ram semen. *Reprod Dom Anim.* 2020; 55:162–169.
<https://doi.org/10.1111/rda.13601>.
- Pallini V, Bacci E (1979) Bull sperm selenium is bound to a structural protein of mitochondria. *J. Submicrosc. Cytol.* 11:165–170.
- Perkins A, Fitzgerald JA (1994) The behavioural component of the ram effect: the influence of ram sexual behavior on the induction of estrus in anovulatory ewes. *J. Anim. Sci.* 72: 51–55.

- Perkins A, Roselli CHE (2007) The ram as a model for behavioral neuroendocrinology. *Horm Behav.* 52:70-77.
- Pope AL, Moir RJ, Somers M, Underwood EJ, White CL (1979) The effect of sulphur on Se absorption and retention in sheep. *The Journal of Nutrition.* 109: 1448-1455.
- Porras AAI (1999) Efectos del fotoperiodo artificial sobre la actividad reproductiva de la oveja Pelibuey. Tesis de Doctorado en Ciencias Veterinarias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Price EO (1987) Male sexual behavior. *Vet. Clin. North Am., Food Anim. Pract.* 3, 405–422.
- Price EO, Borgwardt R, Dally MR (1999) Effect of early fenceline exposure to estrous ewes on the sexual performance of yearling rams. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 64, 241–247.
- Ptaszynska M (2007) Compendium de reproducción animal de Intervet 9a Edición (en línea). Sinervia Uruguay/Paraguay.
<http://www.sinervia.com/CompendioReproduccion%20Animal%20Intervet.pdf>, (13 de noviembre del 2014).
- Pugh DG (2002) *Sheep and goat medicine.* 2. ed. [S. l.: s. n.].
- Ramírez BE (2009) Suplementación de selenio en áreas deficientes de México. Tecnologías para Ovinocultores. Fortalecimiento del sistema productor ovino.
<http://www.asmexcriadoresdeovinos.org/sistema/pdf/alimentacion/suplementaciondeselenio.pdf>

Rosenfeld I (1964) Selenium: geobotany, biochemistry, toxicity and nutrition. New York: Academic Press, p. 141-213.

Russel A (1984) Body condition scoring of sheep. In Practice; 6:91-93.

Safa S, Moghaddam G, Jozani RJ, Kia HD, Janmohammadi H (2016) Effect of vitamin E and selenium nanoparticles on postthaw variables and oxidative status of rooster semen. Animal Reproduction Science, 174, 100–106. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.09.011>.

Sánchez-Gutiérrez M, García-Montalvo EA, Izquierdo-Vega JA, Del Razo LM (2008) Effect of dietary selenium deficiency on the in vitro fertilizing ability of mice spermatozoa. Cell Biol Toxicol (2008) 24:321–329 DOI 10.1007/s10565-007-9044-8

Segerson E, Ganapathy S (1980) Fertilization Of Ova In Selenium/Vitamin E Treated Ewes Maintained On Two Planes Of Nutrition, J. Anim. Sci. 51, 386-394.

Segerson E, Gunsett F, Getz W (1986) Selenium-Vitamin E Supplementation And Production Efficiency In Ewes Marginally Deficient In Selenium. Livest. Prod. Sci. 14, 149-159.

Sen-Gupta R, Sen-Gupta E, Dhakal BK, Thakur AR, Ahnn J (2004) Vitamin C and vitamin E protect the rat testes from cadmium-induced reactive oxygen species. Mol Cell;17:132e9. <https://doi.org/10.1242/jcs.00946>.

Sezer Z, Ekiz Yilmaz T, Gungor ZB, Kalay F, Guzel E (2020) Effects of vitamin E on nicotine-induced lipid peroxidation in rat granulosa cells: Folliculogenesis. *Reprod Biol*; 20:63e74. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2019.12.004>.

Shahat AM, Rizzoto G, Kastelic JP (2020) Amelioration of heat stress-induced damage to testes and sperm quality. *Theriogenology* 158, 84e96. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.08.034>

Shelton M (1960) The influence of the presence of the male on initiation of oestrus cycling and ovulation in Angora does. *J Anim Sci* 1960;19:368– 75

Shi L, Chunxiang Zhanga, Wenbin Yuea, Liguang Shi, Xiaomin Zhua, Fulin Lei (2010) Short-term effect of dietary selenium-enriched yeast on semen parameters, antioxidant status and Se concentration in goat seminal plasma. *Animal Feed Science and Technology*. 157 104–108. [doi:10.1016/j.anifeedsci.2010.02.006](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.02.006).

Shi L, Song R, Yao X, Ren Y (2017) Effects of selenium on the proliferation, apoptosis and testosterone production of sheep Leydig cells in vitro. *Theriogenology*, 93, 24-32.

Sies H, Stahl W, Sundquist AR (1992). Antioxidant functions of vitamins: Vitamins E and C, Beta-Carotene, and Other Carotenoids a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 669(1), 7–20. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1992.tb17085.x>

Signoret JP, Fulkerson WJ, Lindsay DR (1982) Effectiveness of testosterone treated wethers and ewes as teasers. *Appl. Anim. Ethol*. 9:37.

- Singh AK, Rajak SK, Kumar P, Kerketta S, Yogi RK (2018) Nutrition and bull fertility: A review. *J. Entomol. Zool. Stud*, 6(6), 635-643.
- Smith MC, Sherman DM (1994) *Goat medicine*. 2. ed. [S.l.: s.n.].
- Stefanov R, Chervenkov M, Anev G, Maksimović N, Andreeva M, Ivanova T, et al. (2018) Effect of Supplementation with inorganic and organic selenium on sperm quality and quantity in north-east Bulgarian Merino Rams. *Biotechnology In Animal Husbandry*, 34(1), 69-81.
- Stellflug JN, Perkins A, LaVoie VA (2004) Testosterone and luteinizing hormone responses to naloxone help predict sexual performance in rams. *J. Anim. Sci.* 82, 3380–3387.
- Stowe HD, Herdt TM (1992) Clinical assessment of selenium status of livestock. *J. Anim. Sci*; 70: 3928-3933.
- Surai PF (1999) Tissue-specific changes in the activities of antioxidant enzymes during the development of the chicken embryo, *British Poultry Science*, 40:3, 397-405. <http://dx.doi.org/10.1080/00071669987511>.
- Surai PF (2002) Selenium in poultry nutrition 2. Reproduction, egg and meat quality and practical applications. *World's Poultry Science Journal*, 58: 431–450.
- Surai PF, Fisinin VI (2015) Selenium in pig nutrition and reproduction: boars and semen quality - a review. *Asian-Australas J Anim Sci* 2015; 28:730e6. <https://doi.org/10.5713/ajas.14.0593>.

- Thiéry JC., Chemineau P., Hernandez X., Migaud M., Malpoux B. (2002) Neuroendocrine interactions and seasonality. *Dom Anim End* 2002;23: 87-100.
- Thwaites CJ (1982) Development of mating behaviour in the prepubertal ram. *Anim. Behav.* 30, 1053–1059.
- Tilbrook AJ, Cameron AWN (1990) The contribution of the sexual behaviour of rams to successful mating of ewes under field conditions. In: Oldham, C.M., Martin, G.B., Purvis, I.W. (Eds.), *Reproductive Physiology of Merino Sheep: Concepts and Consequences*. The University of Western Australia, Perth, pp. 143–160.
- Toe F, Lahlou-Kassi A, Mukasa- Mugerwa E (1994) Semen characteristics of Ile-de-France rams of different age and physical condition. *Theriogenology* 42: 321-326. doi: 10.1016/0093- 691X(94)90276-3.
- Tortolero I, Arata-Bellabarba G, Osuna JA, Gómez R, Regadera J (2005) Estrés oxidativo y función espermática. Revisión. *Rev Venez Endocrinol Metab* 2005; 3 (3): 12-19.
- Tulley D, Burfening PJ (1983) Libido and scrotal circumference of rams as affected by season of the year and altered photoperiod. *Theriogenology* 20, 435–448.
- Udala J, Ramisz A, Drewnowski W, Lasota B, Radoch W (1995) The Semen Quality of Bulls After Application of Selenium and Vitamin E. *Zesz. Nauk. Ar Szczecin*, 168, 57-63.

Ullery DE. et al. (1978) Selenium supplementations in salt for sheep. *J. Animal Sci.* v. 46, p. 561-562.

Underwood EJ, Shier FL, Davenport N (1944) Studies in sheep husbandry in Western Australia. V. The breeding season of Merino crossbred and British breed ewes in the agricultural districts. *J. Dep. Agric. West. Aust.* 11: 135–143.

Valasi I, Chadio S, Fthenakis GC, Amiridis GS (2012) Management of pre-pubertal small ruminants: physiological basis and clinical approach. *Anim Reprod Sci*; 130:126e34. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.005>.

Valencia J, Porrás A, Mejía O, Berruecos JM, Trujillo J, Zarco L (2006) Actividad reproductiva de la oveja Pelibuey durante la época del anestro: influencia de la presencia del macho. *Revista Científica, FCV-LUZ.* 16: 136-141.

Van DC, Callan RJ (2001) Selenium and vitamin E. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 17(2), 373-402.

Véliz FG, Poindron P, Malpoux B, Delgadillo JA (2006) Maintaining contact with bucks does not induce refractoriness to the male effect in seasonally anestrous female goats. *Animal Reproduction Science.* 92: 300-309.

Villanueva CGJ (2011) Nutrición del ganado: selenio. 2011. *Premezclas Minerales*, Zapopan, Jalisco, México. http://www.produccion-animal.com.ar/suplementacion_mineral/147-selenio.pdf

Vishwa RU, Ramesh V, Dewry R, Yadav DK, Ponraj P (2022) Bimodal interplay of reactive oxygen and nitrogen species in physiology and pathophysiology of

bovine sperm function. *Theriogenology*. Volume 187.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.04.024>

Wade GN, Jones JE (2004) Neuroendocrinology of nutritional infertility. *Am J*

Physiol Regul Integr Comp Physiol 287:R1277-1296.

<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00475.2004>.

Walji H (2007) *Vitamins, Minerals and dietary supplements*. 3° edición. Edaf Antillas.

Madrid. ISBN: 978-84-414-1353-5.

Walkden-Brown SW, Restall BJ, Norton BW, Scaramuzzi RJ, Martin GB (1994)

Effect of nutrition on seasonal patterns of LH, FSH and testosterone

concentration, testicular mass, sebaceous gland, volume and odour in

Australian Cashmere goats. *J Reprod Fertil*; 102:351-360.

Weiss WP (2003) Selenium nutrition of dairy cows: Comparing responses to

organic and inorganic selenium forms. En *Proc. 19th Alltech Annu. Symp.*

Nutr. Biotechnology in the Feed and Food Industries. P. Lyons, y K. A.

Jacques, Ed. Nottingham University Press, Nottingham, UK. 333-343.

Whanger PD (2002) Selenocompounds in plants and animals and their biological

significance. *Journal of the American College of Nutrition*, v. 21, n. 3, p. 223-

232.

Wilkins JF, Kilgour RJ, Gleeson AC, Cox RJ, Geddes SJ, Simpson IH (1982)

Production responses in selenium supplemented sheep in northern New

South Wales. 2. Liveweight gain, wool production and reproductive

performance in young Merino ewes given selenium and copper

- supplements. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 22(115), 24. doi:10.1071/ea9820024.
- Wilson MJ, Kaye D, Smith WE, Quach HT, Sinha AA, Vatassery GT (2003) Effect of vitamin E deficiency on the growth and secretory function of the rat prostatic complex. *Experimental and Molecular Pathology*, 74: 267–275.
- Wright PL, Bell MC (1966) Comparative metabolism of selenium and tellurium in sheep and swine. *Am J Phys*; 211:6–10
- Xavier GC, Soares PC, Junior Va da S, Torres SM de, Maymone ACM, Morais RN de, et al. (2016) Effect of dietary selenium and vitamin E supplementation on testicular morphology and serum testosterone concentration in goats following scrotal insulation. *Acta Sci Vet* 2016; 44:8. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.81171>.
- Xia Y (2005) Effectiveness of selenium supplements in a low-selenium area of China. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 81, n. 4, p. 829-834.
- Yao XL, Ei-Samahy MA, Fan LJ, Zheng LF, Jin YY, Pang J, et al (2018) In vitro influence of selenium on the proliferation of and steroidogenesis in goat luteinized granulosa cells. *Theriogenology*; 114:70e80. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.03.014>.
- Yousef HM, Abul-Ela A, Farag ER, Awad YL, El-Keraby FE, Hassanin HA (1990) Effect of pre-partum selenium injection on reproductive and lactational performance and post-partum hormone profile in dairy cows. In: *Proceedings of 4th Scientific Congress Faculty of Veterinary Medicine Assiut, University Assiut, Egypt*, pp. 445–454

- Yousef MI (2010) Vitamin E modulates reproductive toxicity of pyrethroid lambda-cyhalothrin in male rabbits. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 1152–1159
- Yousef MI, Abdallah GA, Kamel KI (2003) Effect of ascorbic acid and vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. *Animal Reproduction Science* 76: 99–111
- Yue D, Yan L, Luo H, Xu X, Jin X (2010) Effect of vitamin E supplementation on semen quality and the testicular cell membranal and mitochondrial antioxidant abilities in Aohan fine-wool sheep. *Animal Reproduction Science*, 118: 217–22
- Zarazaga LA, Guzman JL, Domínguez C, Perez MC, Prieto R (2005) Effect of plane of nutrition on seasonality of reproduction in Spanish Payoya goats. *Animal Reproduction Science* 87; 253–267.
doi:10.1016/j.anireprosci.2004.11.004.
- Zavala-Elizarraraz R, Ortiz-Ortiz JR, Ramón-Ugalde JP, Montalvo-Morales P, Sierra-Vásquez A, Sanginés-García JR (2008) Pubertad en hembras de cinco razas ovinas de pelo en condiciones de trópico seco. *Zootecnia Tropical*, 26(4), 465-473.
- Zhang Y, Roh YJ, Han S-J, Park I, Lee HM, Ok YS, et al. (2020) Role of selenoproteins in redox regulation of signaling and the antioxidant system: a review. *Antioxidants*. 9:383e400. <https://doi.org/10.3390/antiox9050383>.
- Zubair M, Ali M, Ahmad M, Sajid SM, Ahmad I, Gul ST (2015) Effect of Selenium and Vitamin E on cryopreservation of semen and reproductive performance of animals (a review). *J. Entomol. Zool. Studies*, 3(1), 82-86.

