



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS | UNR



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**Trabajo de Tesis realizado como requisito para optar al título de
DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS**

**SELENIO EN VACAS LECHERAS: INCIDENCIA REPRODUCTIVA Y
PRODUCTIVA**

AUTOR: Médico Veterinario, BIANCHINI, Guillermo José

DIRECTOR: Doctor, Médico Veterinario, MARINI, Pablo Roberto

CODIRECTOR: Doctor, Médico Veterinario, RINAUDO, Agustín

Casilda

MIEMBROS DEL JURADO:

Dra. Dibarbora, Marina

Dra. Fischman, María Laura

Dr. Maiztegui, José

2023

AGRADECIMIENTOS

- Al Méd. Vet. Dr. Pablo Roberto Marini, mi amigo y director, por la paciencia, empeño y consejos que tuvo para el desarrollo de la tesis.
- Al Méd. Vet. Dr. Agustín Rinaudo, mi amigo y co-director, por su optimismo y gran esfuerzo para llevar adelante el trabajo.
- Al Méd. Vet. Néstor Acosta, por compartir conmigo su información de los establecimientos muestreados.
- A la Cooperativa La industrial Argentina de Centeno, por la colaboración y organización a las visitas a los establecimientos.
- Al Méd. Vet. Luciano Bussi, por su permanente colaboración y aportes para el trabajo de campo.
- A Juan Enrique Martínez, técnico del laboratorio Azul, por su excelente predisposición para recibir, acondicionar y realizar la lectura de las muestras en su laboratorio.
- A Florencia Berlen y Silvana Barcia, del laboratorio Americano, por recibir muestras y realizar los correspondientes estudios.
- A las autoridades y personal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Rosario, por brindarme la posibilidad de desarrollar mis estudios.
- A los dueños, personal y asesores de los establecimientos lecheros, con particular énfasis a Edgardo Carignano, propietario del tambo Estrella del Sur y al Ing. Agrónomo Lucas Sonego por sus aportes técnicos en el trabajo.

PRESENTACIONES PARCIALES DE LA TESIS

Comunicaciones en Jornadas y Congresos

Bianchini, G., Rinaudo, A, y Marini, P.R. 2019. Punto de corte de la Glutathione Peroxidasa (GSH-Px) para el diagnóstico de patologías uterinas en vacas lecheras. Instituto de reproducción Animal Córdoba (IRAC) pp 328. <https://iracbiogen.com/wp-content/uploads/2020/11/RESUMEN-13-Simposio-Internacional-de-Reproduccion-Animal-2019.pdf>

Bianchini, G., Frana, E., Vega, M., Di Masso, R., Bernardi, S., Marini, P.R. 2018. Actividad glutathione peroxidasa en vacas lecheras suplementadas y sin suplementar con selenio. VI Jornada de Difusión de la Investigación y Extensión de la Facultad de Ciencias Veterinarias. UNL
<http://www.fcv.unl.edu.ar/pages/investigacion/jornadas-de-difusion-de-la-investigacion-y-extension/jornadas-2018.php>

Bianchini, G., Frana, E., Vega, M., Bernardi, S., Marini, P.R. 2018. Actividad de la glutathione peroxidasa en el Pre-parto y Pos-Parto en vacas lecheras en un sistema intensificado. XII Jornada de Ciencia y Tecnología 2018. UNR.
https://drive.google.com/file/d/185QfEG1MYtaFXBdd_x9BW8JCqzy_5dOe/view

Bianchini, G., Frana, E., Vega, M., Bernardi, S., Marini, P.R. 2018. Effect of Intraruminal selenium on the activity of glutathione peroxidase, calving to first service interval and production of dairy cattle. Proceedings of the VI Peruvian Congress Animal Reproduction of the Asociación Peruana de Reproducción Animal, ASPRA-VII Congress. SPERMOVA.2018; 6(1): 66-117. Cusco, Peru, September 5 to 7th.
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjR2sTZ9dD7AhX0qJUCHdRIDL0QFnoECAsQAQ&url=http%3A%2F%2Fspermova.pe%2Fsite%2Ffiles%2FRevistas%2FRev.%25201%2520Vol.8%25202018%2F08-Proceedings ASPRA 2018.pdf&usg=AOvVaw3e22bygKYAB7f7AjWtvik6>

Bianchini, G., Rinaudo, A., Marini, P. R. 2017. Evolución pre y posparto de la glutatión peroxidasa en vacas lecheras. XI Jornada de Ciencia y Tecnología – UNR. <http://www.unr.edu.ar/noticia/12142/xi-jornada-de-ciencia-y-tecnologia-resumenes-presentados>.

Bianchini, G., Márquez, N., Rinaudo, A., Marini, P. 2015. Actividad de la glutatión peroxidasa y su relación con la presencia de neutrófilos en la luz uterina. XVI Jornadas de Divulgación Técnico - Científicas 2015 - III Jornada Latinoamericana. Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional de Rosario. http://www.fveter.unr.edu.ar/index.cgi?wid_seccion=3&wid_item=85

Artículos publicados en Revistas

Bianchini, G., Rinaudo A., Marini P.R. 2022. Cut-off point of glutathione peroxidase (GSH-PX) for the diagnosis of endometritis in dairy cows. **African Journal of Agriculture and Food Science Article**. Volume 5, Issue 3, 2022. ID: AJAFS_E7MYHIXC.

Bianchini, G., Di Masso, R.J., Rinaudo, A., Marini, P.R. 2020. Actividad glutatión peroxidasa en vacas lecheras suplementadas y sin suplementar con selenio. Rev. Vet. 31: 1, 28-32, Universidad Nacional Noroeste (UNNE). **Revista Veterinaria** ISSN (papel): 1668-4834 ISSN (on line) 1669-6840

Bianchini, G., Savia, C.L., Márquez, N., Rinaudo, A., Marini, P.R. 2019. Efecto de glutatión peroxidasa en la salud uterina y performance productiva de vacas lecheras suplementadas con selenio. **SPERMOVA** 9(1): 28-34. DOI. 10.18548/aspe/0007.04

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|--|-------------|
| ÍNDICE DE TABLAS..... | VI |
| ÍNDICE DE FIGURAS | VII |
| ABREVIATURAS..... | VIII |
| RESUMEN | 1 |
| ABSTRACT..... | 3 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 5 |
| 2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS | 14 |
| 3. MARCO TEÓRICO | 15 |
| 3.1 Definición del Se y sus propiedades químicas..... | 15 |
| 3.2 Selenoproteínas | 15 |
| 3.2.1 Glutación peroxidasa | 15 |
| 3.2.2 Otras Selenoproteínas | 18 |
| 3.3 El Selenio en el suelo..... | 19 |
| 3.4 Metabolismo del Se en los rumiantes. Absorción..... | 21 |
| 3.5 Transporte..... | 23 |
| 3.6 Excreción | 23 |
| 3.7 Requerimientos de los bovinos | 24 |
| 4. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 26 |
| 4.1 Caracterización de los establecimientos lecheros utilizados | 26 |
| 4.1.1 Ubicación | 26 |
| 4.1.2 Descripción del sistema productivo..... | 26 |
| 4.1.3 Alimentación..... | 27 |
| 4.1.4 Rutina de ordeño..... | 28 |
| 4.1.5 Rutina de trabajos de campo | 29 |
| 4.2 Selección de las vacas a estudiar..... | 30 |
| 4.2.1 Requisitos para la selección de las vacas a estudiar | 30 |
| 4.2.2 Animales seleccionados..... | 30 |
| 4.3 Suplementación de Se mediante bolos | 31 |
| 4.4 Muestreos | 32 |
| 4.5 Variables estudiadas..... | 34 |

| | |
|------------------------------------|----------------------|
| 4.6 Análisis estadístico | 35 |
| 5. RESULTADOS..... | 36 |
| 5.1 Punto de corte de la GPx | 36 |
| 5.2 Resultados clínicos..... | 36 |
| 5.3 Resultados reproductivos | 38 |
| 5.4 Resultados productivos..... | 41 |
| 5.5 Alimentación..... | 42 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA | 53 |
| 9. ANEXO..... | 6566 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----------------------|
| Tabla 4.1. Composición química centesimal de las premix utilizadas para cada categoría: VO (vaca ordeño) y Pre-P (preparto)..... | 28 |
| Tabla 4.2. Ingredientes que componen la ración de la categoría VO (vaca ordeño) y Pre-P (preparto) en cada establecimiento..... | 28 |
| Tabla 4.3. Aportes de Se en alimento de VO y Pre-P en E1 y E2..... | 29 |
| Tabla 4.4. Estado del animal según los niveles de Se y valor de GPx correspondiente..... | 33 |
| Tabla 5.1. Cuantificación de los niveles de Se en tierra, agua y en cada componente de la dieta de las vacas..... | 43 |
| Tabla 5.2. Cuantificación de los aportes de Se en las dietas con aportes y sin aportes de Se en vacas ordeño (VO) y Pre-P (preparto) | 43 |
| Tabla A.1. Diferentes selenoproteínas y sus características..... | 6566 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1.1. Reacciones mediadas por la glutathion peroxidasa (GPx) y la glutathion reductasa (GR). Guillén Poza, (2014). | 7 |
| Figura 3.1. Transporte de Se, desde su absorción del suelo por la raíz mediante transportadores de sulfato hasta su volatilización como dimetilselenuro (DMSe) y dimetildiselenuro (DMDSe) (Extraído de Intagri, 2018). | 20 |
| Figura 3.2. Formas químicas de Se en función del pH del suelo (Barceloux, 1999). | 21 |
| Figura 4.1. Maniobra para la aplicación de los bolos de Se | 32 |
| Figura 4.2. Muestreo de moco cervicovaginal mediante la técnica cytobrush..... | 33 |
| Figura 5.1. Curva ROC..... | 36 |
| Figura 5.2. Concentración de GPx al momento de la incorporación del bolo intraruminal de Se según establecimiento y grupo..... | 37 |
| Figura 5.3. Variación Pos-P de la concentración de GSH-Px según grupo..... | 37 |
| Figura 5.4. Ocurrencia de endometritis Pos-P según variación ascendente o descendente de las concentraciones de la GSH-Px | 38 |
| Figura 5.5. Ocurrencia de retención de placenta según variación ascendente o descendente de las concentraciones de la GSH-Px | 38 |
| Figura 5.6. Distribución de la concentración de GPx Pre-P según resultado del cytobrush..... | 39 |
| Figura 5.7. Distribución de la concentración de GPx Pos-P según resultado del cytobrush..... | 39 |
| Figura 5.8. Distribución de la concentración de GPx Pos-P según examen reproductivo clínico | 40 |
| Figura 5.9. Distribución de la concentración de GPx Pre-P según IPC..... | 40 |
| Figura 5.10. Producción de leche según variación ascendente o descendente de las concentraciones de la GSH-Px | 41 |
| Figura 5.11. Distribución de la concentración de GPx Pre-P según producción (litros de leche)..... | 41 |
| Figura 5.12. Distribución de la concentración de GPx Pre-P según estado corporal | 42 |

ABREVIATURAS

AUC: Area Bajo la Curva. (Area Under Curve)

ABP-PC/A: Alimento Balanceado Pre Parto con Sales Aniónicas

EC: Estado Corporal

ERO: Especie Reactiva de Oxígeno

GC: Grupo Control

GPx: Enzima Glutación Peroxidasa

GR: Enzima Glutation Reductasa

GS: Grupo Suplementado

GSH-Px: Enzima Glutación Peroxidasa Reducida

IPC: Intervalo Parto Concepción

MFR: Membranas Fetales Retenidas

mg Se / Kg Ms: Miligramos de Selenio por Kilogramo de Materia Seca

MOR: Metabolitos Oxigenados Reactivos

MS: Materia Seca

N.R.C.: National Research Council

Pos-P: Pos-Parto

ppm: partes por millón

ppb: partes por billón

Pre-P: Pre-Parto

RL: Radicales Libres

Se: Selenio

Se-Met: Selenometionina

Se-Cis: Selenocisteína

Se-P: Selenoproteína

SS: Selenito de Sodio

Vit. E: Vitamina E

VO: vaca ordeña

µg/L: Microgramos por Litro

TÍTULO

Selenio en vacas lecheras: incidencia reproductiva y productiva.

PALABRAS CLAVES

Vacas lecheras, Selenio, Glutación Peroxidasa, Producción, Reproducción.

RESUMEN

Las vacas lecheras son vulnerables a trastornos de salud durante el periodo de transición, que comprende el periodo pre-parto (21 días previos al parto), parto y termina a los 21 días de la lactancia. Las enfermedades en este periodo no solo afectan al animal, sino que causan el mayor impacto económico de los rodeos lecheros, no solo por los costos de los tratamientos veterinarios sino debido a que afectan el pico de lactancia. El exceso de producción de los radicales libres (RL), sin el control adecuado de las enzimas que los controlan, causan un estrés oxidativo generando daño celular irreparable. La suplementación con microminerales y vitaminas en este periodo crítico de la vaca lechera intenta reducir los riesgos graves de salud que corre el animal a las consecuencias del exceso de RL. Las empresas lecheras requieren que sus vacas se preñen en el menor tiempo posible para lograr la mayor eficiencia reproductiva y productiva de sus rodeos. La deficiencia de minerales repercute de manera negativa sobre dicha eficiencia. Uno de los micro minerales que más incidencia tiene sobre las patologías reproductivas es el Selenio (Se), siendo responsable de actuar como cofactor de la enzima Glutación Peroxidasa (GPx). Dicha enzima es la encargada de mantener un equilibrio entre la producción de los RL y su posterior eliminación del organismo, evitando el daño celular. El diagnóstico de la deficiencia de Se se realiza a través de un método indirecto, midiendo la actividad de la GPx encargada de eliminar a los RL. El objetivo de esta tesis fue analizar la actividad de GPx antes y después del parto y observar si dicha actividad afectaba a la vaca lechera en establecimientos del sur de la provincia de Santa Fe. Los resultados obtenidos mostraron que en los animales que no fueron suplementados con Selenio, la actividad de dicha enzima fue menor, afectando la respuesta productiva y reproductiva de dicha vaca. Se concluye que la suplementación con Selenio incrementa significativamente la actividad de GPx, es por ello que se considera de gran interés continuar con su estudio, incrementando el número de vacas y

establecimientos para la confirmación de las consecuencias reproductivas y productivas en la cuenca lechera sur de la provincia de Santa Fe.

TITLE

Selenium in dairy cows: reproductive and productive incidence.

KEY WORDS

Dairy cows, Selenium, Glutathione Peroxidase, production, reproduction.

ABSTRACT

Dairy cows are vulnerable to health disorders during the transition period, which includes the pre-calving period (21 days prior to calving), calving and ending 21 days into lactation. Diseases in this period not only affect the animal, but cause the greatest economic impact in dairy herds, not only due to the costs of veterinary treatments but also because they affect the lactation peak. The excess production of free radicals (RL), without adequate control of the enzymes that control them, cause oxidative stress, generating irreparable cell damage. The supplementation with microminerals and vitamins in this critical period of the dairy cow tries to reduce the serious health risks that the animal runs as a result of excess RL.

Dairy companies require their cows to get pregnant in the shortest time possible to achieve the highest reproductive and productive efficiency of their herds. Mineral deficiency has a negative effect on this efficiency. One of the micro minerals that has the greatest impact on reproductive pathologies is Selenium (Se), being responsible for acting as a cofactor for the enzyme Glutathione Peroxidase. This enzyme is responsible for maintaining a balance between the production of free radicals and its subsequent elimination from the body, avoiding cell damage. The diagnosis of selenium deficiency is made through an indirect method, measuring the activity of the enzyme glutathione peroxidase (GPx) in charge of eliminating free radicals. The objective of this thesis was to analyze the activity of GPx before and after calving and to observe if this activity affected the dairy cow in establishments in the south of the province of Santa Fe. The results obtained showed that the animals that were not supplemented with Selenium, the activity of said enzyme was lower, affecting the productive and reproductive response of said cow. It is concluded that Selenium supplementation significantly increases the activity of GPx, which is why it is considered of great interest to continue with its study, increasing the number of cows

and establishments to confirm the reproductive and productive consequences that could lead to rodeos in the southern dairy basin of the province of Santa Fe.

1. INTRODUCCIÓN

El Selenio (Se) (del griego “selénion”) fue descubierto en 1817 por el químico sueco Jöns Jacob Berzelius. Si bien es un elemento ligado a la salud y a la producción, comenzó siendo estudiado por su toxicidad (Painter, 1941), y no fue hasta 1957 que fue considerado como un mineral esencial, cuando se demostró que participa en la prevención de la degeneración hepática en ratas (Schwarz y Foltz, 1957). Más tarde, se demostró que previene la enfermedad de músculo blanco, forma clínica de la deficiencia en rumiantes (Muth *et al.*, 1958). Fue vinculado junto con la vitamina E en la prevención de diferentes síndromes productivos y reproductivos en dicho grupo de animales (Underwood, 1971). El Se interviene en diversos mecanismos fisiológicos, como la prevención de la lipoperoxidación a nivel de las membranas celulares, la modulación del sistema inmune, metabolismo de las hormonas tiroideas, mecanismos a través de los cuales el Se mejoraría la salud y la producción de los bovinos (Spears y Weiss, 2008).

En la naturaleza, el Se está distribuido en la mayoría de las rocas y suelos. Las regiones con deficiencia de Se contienen entre 0,1 a 0,6 mg/kg de Se en el suelo, como sucede, por ejemplo, hablando a nivel mundial, en Nueva Zelanda, Dinamarca y la región atlántica de Canadá. La acidez del suelo es un factor importante que resulta en una menor disponibilidad de Se para los cultivos (Umesh *et al.*, 2000). Si bien la concentración de Se en el suelo es un factor importante, la cantidad de Se en los vegetales dependerá, principalmente, de su capacidad de tomar el elemento. Es así como podemos encontrar alimentos deficientes, con apenas 0,01 ppm de Se, a alimentos con riesgo de toxicidad, con más de 5 ppm de Se (McDowell, 2000).

En Argentina se ha postulado la existencia de zonas con deficiencia de Se en las provincias de Buenos Aires y Entre Ríos, basándose en estudios indirectos realizados en bovinos, mientras que hay zonas con abundancia de este micro elemento en las provincias de Córdoba y San Luis (Ruksan y Zanelli, 1992). De acuerdo al trabajo de Coppo *et al.* (1999) las zonas más afectadas por el déficit de Se son el norte y sur de Santa Fe, Chaco, Formosa, Santiago del Estero y Entre Ríos.

El interés de la determinación de los valores de Se en los animales comenzó cuando se conocieron sus efectos tóxicos, siendo responsable de la Enfermedad del Alkali o

vértigo ciego (Franke, 1934). Luego, adquirió una mayor dimensión tras el descubrimiento de su esencialidad para los animales (Schwarz y Foltz, 1957). El verdadero papel de este elemento en el organismo no se puso de manifiesto hasta el inicio del año 1970, cuando se descubrió su función protectora contra el daño oxidativo, al ser un componente de la enzima Glutati6n Peroxidasa (GPx) (Rotruck *et al.*, 1973). Desde entonces esta selenoenzima se ha aislado en gran cantidad de tejidos pertenecientes a numerosas especies animales (Ganther *et al.*, 1976).

La GPx es una metaloenzima que forma parte del complejo glutati6n, se6alado como principal sistema anti oxidante del organismo. Se han identificado tres tipos de GPx: celular, extracelular (plasmática) y fosfolípido hidroperóxido GPx. La GPx representa, además, el 75% del Se sanguíneo estando contenida en el interior de los glóbulos rojos a los que se incorpora durante la eritropoyesis. El hecho de que exista una fuerte correlaci6n entre el Se sanguíneo y la GPx hace que esta enzima se utilice como medida indirecta importante en el diagn6stico de procesos carenciales de Se (Wheatley y Beck, 1988).

La GPx dependiente de Se desempe6a un papel central en los procesos de óxido-reducci6n celulares, al catalizar las reacciones que ayudan a destruir tanto al agua oxigenada como a los peróxidos de ácidos grasos (hidroperóxidos orgánicos) que se generan en el organismo. En la Figura 1.1 se representan las reacciones celulares en las que participa la GPx (Lopez Alonso *et al.*, 1997). Los peróxidos son reducidos mediante la reacci6n general catalizada por la GPx, en la cual el glutati6n reducido (GSH-Px) actúa como donante de hidrógeno. A continuaci6n, el glutati6n oxidado se reduce de nuevo, es decir, es regenerado por reacciones subsiguientes, mediante una reacci6n en la que participan la glutati6n reductasa y un donante de hidrógeno (NADPH + H⁺).

Se ha demostrado que, a nivel molecular, el stress nutricional, tecnol6gico, ambiental e interno conducen a la sobreproducci6n de especies reactivas de oxígeno, la alteraci6n del equilibrio redox y al estr6s oxidativo (Abuelo *et al.*, 2019). Es bien sabido que el estr6s oxidativo, el cual es considerado un desequilibrio entre la producci6n de radicales libres (RL) y su desintoxicaci6n, tiene una serie de consecuencias perjudiciales que afecta el sistema inmunol6gico y reproductivo, así como a los

principales parámetros del crecimiento, desarrollo y salud general de los animales (Mavangira *et al.*, 2018; Sordillo *et al.*, 2016).

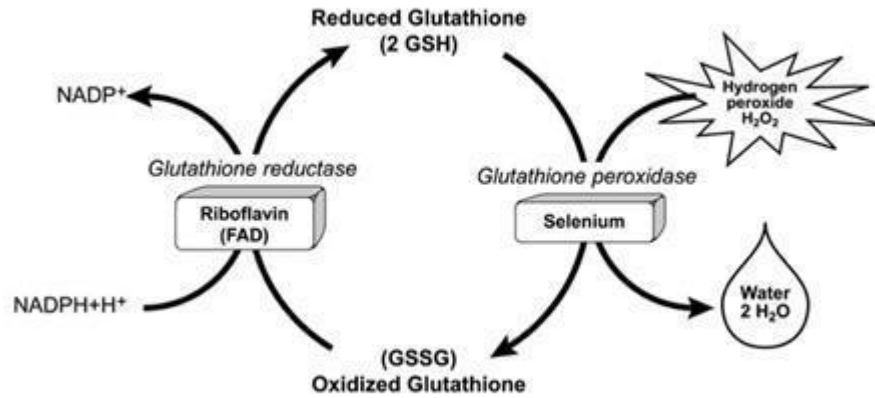


Figura 1.1. Reacciones mediadas por la glutatión peroxidasa (GPx) y la glutatión reductasa (GR). Guillén Poza, (2014).

La deficiencia de Se induce una baja actividad de GPx, dejando la célula expuesta a la acción nociva de los metabolitos oxigenados reactivos (MOR), lo que produce alteraciones en la estructura de los lípidos, proteínas, polisacáridos, DNA y otras macromoléculas celulares (Miller *et al.*, 1993). No sólo se altera la funcionalidad celular sino también la estructura de organelas intracelulares como son la mitocondria, el lisosoma y la membrana celular (Combs *et al.*, 1975).

Existen varios sistemas bioquímicos presentes en las células y en los fluidos extracelulares que intervienen en la remoción de esas especies reactivas de oxígeno (Nockels, 1996). Dentro de estos sistemas antioxidantes se encuentra el Se y la vitamina E (Vit. E), ambos nutrientes esenciales que juegan un papel importante en los mecanismos de defensa contra el daño ocasionado al organismo por la producción de RL (MacPherson, 1994). El sistema antioxidante intenta mantener bajos los niveles de RL. Como producto de la deficiencia de Se, el estrés oxidativo se ha asociado con la presentación de algunas patologías en el bovino como son la enfermedad del músculo blanco, la retención de placenta, la metritis, la inmunosupresión, la mastitis, y la disminución del rendimiento productivo y reproductivo (Van Saun, 1990; Eicken *et al.*, 1992; Colitti *et al.*, 2019; Putman *et al.*, 2018; Boudjellaba *et al.*, 2018).

La mayor incidencia de problemas de salud observada durante el período peri-parto puede ser, en parte, consecuencia de respuestas inmunes subóptimas debido a diversos factores y condiciones de estrés (Aleri *et al.*, 2016). Por lo cual, merecen especial atención las complejas interacciones entre el metabolismo alterado y la función inmunológica que predisponen a las vacas a enfermedades peri-parto (Esposito *et al.*, 2014). Es probable que el aumento de las MOR y la deficiencia de la defensa antioxidante durante estos períodos críticos, antes y después del parto, desempeñen un papel importante en el compromiso del sistema inmunológico y los problemas relacionados con la salud (Colitti *et al.*, 2019; Mordak *et al.*, 2015; Islam *et al.*, 2017).

En particular, la infertilidad en el ganado lechero es un problema complejo y multifactorial que no se puede evaluar de manera aislada de otras enfermedades. Es fundamental la prevención de problemas en el período de peri-parto, en especial, hipocalcemia, mastitis, cojera y retención de placenta, los cuales tienen un impacto negativo sobre la fertilidad posterior de la vaca. Las patologías conocidas como membranas fetales retenidas (MFR) ocurren cuando la placenta no ha sido evacuada en un corto tiempo después del parto. Las vacas con MFR aumentan los riesgos de presentar metritis y mastitis durante la lactancia temprana. Algunos investigadores han observado una reducción en la incidencia de MFR con una inyección única de Se y vitamina E dada aproximadamente 21 días pre-parto (Pre-P) (Le Blanc *et al.*, 2002).

En lo que respecta a la situación de Argentina frente a este tema, es de destacar que el país posee antecedentes de bajos niveles de actividad GPx en sangre (Cseh *et al.*, 2013; Brambilla *et al.*, 2016), al igual que bajas concentraciones de Se en forrajes, así como también casos clínicos de enfermedad del musculo blanco, forma clínica de la carencia de Se en terneros (Rodríguez *et al.*, 2016). Lamentablemente, la forma subclínica de esta carencia mineral precede a dicha enfermedad y puede pasar desapercibida, generando pérdidas productivas importantes. En la Cuenca Deprimida del Salado (Provincia de Buenos Aires) se ha reportado recientemente la manifestación clínica de la deficiencia de Se en bovinos (Rodríguez *et al.*, 2016), sin embargo, aún no se conoce si dicha deficiencia está presente de manera subclínica. En lo que se refiere a la absorción del Se, el mismo es un elemento que se encuentra en pequeñas cantidades en las dietas, ya que depende de la concentración,

disponibilidad en el suelo y la composición botánica del tapiz. Los animales alimentados con pasturas a base de leguminosas son más propensos a padecer carencias de Se debido a que las leguminosas tienden a contener menos Se que las gramíneas, además las fertilizaciones con superfosfato tienden a reducir las concentraciones de Se en las plantas (Underwood y Suttle, 1999).

Las necesidades nutricionales de Se en el ganado son de 0,1 mg / kg de materia seca (MS) para el ganado para carne y de 0,3 mg / kg de MS para las vacas lecheras (N.R.C., 2001). Es importante mencionar que los requerimientos del Se no han sufrido modificaciones según la última publicación de NASEM 2021 (Weiss, 2021). Dichas necesidades pueden satisfacerse cómodamente mediante la suplementación. Diversos estudios concluyeron que las fuentes de Se inorgánico no eran efectivas para cumplir con los requisitos de Se de los animales rumiantes (Andrieu, 2008; Mehdi, *et al.*, 2016; Hosnedlova, *et al.*, 2017). En general, se ha demostrado que la biodisponibilidad de Se-Levadura es superior a la de Selenito de Sodio (SS). Se ha demostrado que la biodisponibilidad relativa del Se orgánico en forma de Se-Levadura es 1,4 veces mayor que la del SS si se usa GPx en sangre como criterio de prueba, 1,9 si se usa Se en sangre y 2,7 si se usa Se de leche (Malbe *et al.*, 1995).

Por su parte, se ha constatado en varias especies animales que la biodisponibilidad del Se depende de la forma de Se ofrecido en la dieta (Moreda-Piñeiro *et al.*, 2017; Surai *et al.*, 2016; Juniper *et al.*, 2019). En las especies de rumiantes, la asimilación de Se de la dieta puede depender de las condiciones del rumen que pueden disminuir sustancialmente la disponibilidad de formas minerales de Se, en particular SS (Galbraith *et al.*, 2016). Las formas orgánicas de Se no parecen sufrir el mismo destino ruminal que las formas minerales y, como tal, estarían más disponibles para su utilización por las vacas lecheras (Sun *et al.*, 2019; Gong *et al.*, 2018). Se ha informado que el Se orgánico, en forma de selenometionina (Se-Met), es una fuente de Se más eficaz en comparación con formas minerales como el SS o el selenato (Surai *et al.*, 2019).

La lechería argentina sufrió un proceso de transformación pasando de sistemas pastoriles a una producción intensiva con mayor participación de la suplementación en la dieta como los concentrados, silos de planta entera y heno (Lazzarini *et al.*, 2014). Este cambio se debe en parte a la competencia que el tambo tiene con el uso

de la tierra para agricultura en la pampa húmeda, siendo la soja el cultivo de mayor impacto. Esto produjo una elevada tasa de extracción de nutrientes del suelo, que no fue repuesta en igual magnitud, generando un proceso de degradación y agotamiento que pone en peligro la sustentabilidad de los sistemas productivos (Casas, 2002; Martínez, 2002). A partir de estos y de otros factores, los productores se vieron obligados de pasar de la utilización del pastoreo directo a encierres en corrales a cielo abierto y del mismo modo las vacas Pre-P, suministrándoles en general una ración con inadecuada calidad de suplementos (Lazzarini *et al.*, 2014). Este hecho afecta el estado inmunitario por falta de absorción de Se y se predispone a infecciones uterinas (Rutigliano *et al.*, 2008). Se ha documentado que las vacas con infecciones uterinas durante el pos-parto (Pos-P) tienden a incrementar los días al primer celo, al primer servicio y a presentar menor tasa de concepción (Fonseca *et al.*, 1983).

Estudios realizados en los EE.UU. concluyeron que los requerimientos actuales de las vacas Pre-P y en lactación que consumen parcialmente forraje fresco deberían ser suplementadas con Se aproximadamente desde tres semanas antes del parto (Gerloff, 1992). Las vacas lecheras en el Pos-P poseen incrementados los requerimientos nutricionales de los antioxidantes. La suplementación con Se orgánico supranutricional puede ser beneficioso porque las selenoproteínas (Se-P) están involucradas en la regulación del estrés oxidativo y en la inflamación (Hall, 2014). Además, de mejorar el desempeño de las vacas, la suplementación con Se tiene efectos beneficiosos sobre el sistema inmune del ternero. La vitamina E como alfa-tocoferol no atraviesa la barrera placentaria por lo tanto los terneros recién nacidos dependen del consumo de este nutriente a través del calostro y de la leche. Usualmente el contenido de Se en el calostro es bajo, a menos que la vaca sea suplementada en pre-parto (Pre-P) con una fuente de Se. Por lo tanto, optimizar la nutrición de Se durante la gestación tardía y lactación temprana reforzará el sistema inmune de la vaca asegurándose además la adecuada entrega de Se al ternero (Mc Dowell, 2000).

Como se ha mencionado, el Se es un elemento esencial para el adecuado funcionamiento del organismo, debido a su condición de componente estructural de la enzima GPx y de diferentes Se-P involucradas, entre otras funciones, en la protección antioxidante (Bianchini *et al.*, 2020). Por lo tanto, es muy importante conocer el

metabolismo en rumiantes ya que existen diferentes formas químicas presentes en las dietas.

El selenato o SS y las formas orgánicas (por ejemplo, Se-Met) que provienen de la dieta basal o la levadura selenizada (levadura Se) son las formas más comúnmente utilizadas de suplementación con Se (Ullrey, 1992). Sin embargo, difieren en su metabolismo en rumiantes, y varios factores afectan la eficiencia de la absorción de Se, entre ellos: la forma química del elemento, la cantidad ingerida, el estado antes de la suplementación y la presencia de otros factores dietéticos como antagonistas, tal es el caso del Arsénico (As^{5+}), Calcio (Ca^{2+}), Cobalto (Co^{3+}) y Hierro (Fe^{3+}). El N.R.C.2001 indicó una aparente biodisponibilidad del Se en forrajes y concentrados que variaba entre 30 y 60%; es probable que esta variación esté relacionada en gran medida con los cambios metabólicos del Se en el rumen. La mayor parte del selenato consumido se reduce a selenito en el rumen, y una porción sale del rumen y se absorbe como selenato en el intestino delgado, probablemente a través de un sistema de transporte activo (Weiss, 2005). La selenita se reduce a formas de bajo peso molecular y una parte se utiliza para sintetizar selenoaminoácidos, predominantemente Se-Cis, que se incorporan a la proteína microbiana. La selenita restante escapa del rumen y se absorbe en el intestino delgado, de manera más eficiente en el duodeno que en el yeyuno o íleon, a través de un mecanismo pasivo. Las formas insolubles de Se no son utilizadas por el huésped y se excretan a través de las heces (Weiss, 2005).

Se ha demostrado que la suplementación con Se en vacas deficientes está asociada con mejoras en el desempeño reproductivo (Hosnedlova *et al.*, 2017). Por un lado, este efecto podría ser indirecto, al mejorar la inmunidad. Por ejemplo, en vacas lecheras la suplementación con Se disminuye la incidencia de metritis y de retención placentaria, y a su vez resulta en una involución uterina más rápida. (Spears y Weiss, 2008). Estos efectos sobre la salud uterina se deberían a una mejora en la función de los neutrófilos y linfocitos (Hemingway, 2003). En este sentido, se ha demostrado recientemente que la suplementación oral con Se en vacas lecheras en transición aumenta el porcentaje de concepción a la primera inseminación (Khalili *et al.*, 2019). El tratamiento con Se y Vit. E los días 60 y 21 antes del parto y 30 y 90 posparto, redujo la incidencia de retención de membranas fetales y de metritis purulenta, y

aumentó la proporción de vacas gestantes al día 150 posparto (Ruiz Juarez *et al.*, 2009). La MFR es una de las manifestaciones clínicas cuando existe deficiencia de Se (Julien *et al.*, 1976). Se ha observado que los niveles de GSH-Px en los placentomas de vacas con retención de membranas fetales son menores que en las vacas que eliminan normalmente la placenta (Kankofer, 2000). También se ha encontrado que el Se y la vitamina E favorecen la eliminación de la placenta a través del efecto que tienen en la actividad de los leucocitos, ya que favorecen su función y su migración (Eicher *et al.*, 1994). Además, los leucocitos son fuente importante de colagenasa 21 y la actividad de esta enzima se encuentra reducida en vacas con retención de membranas fetales. Así, el aumento de la actividad de la colagenasa favorecería el proceso de expulsión de la placenta después del parto (Gilbert *et al.*, 1993).

Cuando se suplementan formas orgánicas (es decir, levadura de Se), el Se de los selenoaminoácidos parece sufrir menos alteraciones en el ambiente ruminal que el selenato o la selenita estimando una digestibilidad aparente del 66% para el Se orgánico, que es aproximadamente un 40% más alta que la digestibilidad aparente del Se a partir de formas inorgánicas (Weiss, 2005).

Existen diferentes maneras de suplementar Se: soluciones para inyecciones subcutáneas, pre-mezclas minerales añadidas en el alimento, adición de Se al agua de bebida, enriqueciendo de Se al fertilizante para cultivos, y suplementos minerales de libre acceso. Sin embargo, el problema radica en dosificar con precisión la manera de suplementarlo, reducir la frecuencia del tratamiento y evitar un manejo excesivo del animal y además que ofrezca disponibilidad por periodos prolongados. Es por ello que entre las diversas alternativas tradicionales, se destaca el uso de los bolos de liberación lenta o prolongada, los cuales representan una alternativa confiable para la suplementación de minerales traza en rumiantes, ya que permite satisfacer las necesidades diarias del mineral necesario, constantemente, por un tiempo determinado (Revilla *et al.*, 2008). Especialmente, se los considera una buena opción en rumiantes, debido a sus características anatómicas del tracto digestivo (poseen 3 pre-estómagos y un estómago verdadero) en comparación a los no rumiantes (Gayosso *et al.*, 2007). Este tipo de suplementación fue desarrollada en Australia como un medio para proveer cobalto. En 1969 Kuchel y Buckley desarrollaron un bolo

pesado de Se elemental y hierro, lo bastante pesado como para permanecer en el rumen de los animales, donde lentamente liberaban Se durante periodos prolongados. Los bolos de liberación lenta de Se deben tener una densidad mayor que 1.8 g cm^{-3} ya que así aseguran la retención del bolo en el retículo-rumen del animal, lugar donde se aloja y se liberan lentamente los minerales (Paez *et al.*, 2020). Los mismos están conformados por una matriz ferrosa (95%) y Se elemental (5%), el peso de los bolos es de 10 g y su contenido de Se es de 245 a 300 mg como SS, liberando 3 mg de Se por día y su expulsión es por bomba osmótica (Gayosso *et al.*, 2007).

A partir de todo lo expuesto, surge el interés por estudiar los efectos de la suplementación de Se en vacas lecheras del sur de la Provincia de Santa Fe.

2. OBJETIVOS e HIPÓTESIS

OBJETIVO GENERAL

Analizar el uso de la suplementación con Se en vacas lecheras en dos establecimientos del sur de la provincia de Santa Fe y determinar su impacto sobre la performance productiva y reproductiva.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar los valores de GPx en las vacas lecheras.
- Evaluar los resultados reproductivos de las vacas lecheras suplementadas con Se de los establecimientos analizados.
- Monitorear los resultados productivos de las vacas lecheras suplementadas con Se de los establecimientos analizados.

HIPÓTESIS SUSTANTIVA

El uso de la suplementación con Se en vacas lecheras en dos establecimientos del sur de la provincia de Santa Fe mejora la performance productiva y reproductiva.

HIPÓTESIS PARTICULARES

Los valores de GPx en las vacas lecheras de los establecimientos utilizados se encuentran dentro de los parámetros adecuados.

La suplementación de Se en vacas lecheras del sur de la provincia de Santa Fe mejora la eficiencia reproductiva.

La suplementación de Se en vacas lecheras del sur de la provincia de Santa Fe mejora el comportamiento productivo.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Definición del Se y sus propiedades químicas

El Se es un no-metal perteneciente al grupo 16 y periodo 4 de la tabla periódica. Posee propiedades químicas similares al Azufre, lo cual le permite ciertas sustituciones en moléculas biológicamente activas (Combs, 1986).

La forma química en la que se encuentre el Se es el principal factor que determina la absorción del mineral por parte de las plantas (Jones *et al.*, 2017). Los selenatos (SeO_4^{2-}) son la forma en que predomina en suelos agrícolas, seguida por los selenitos (SeO_3^{2-}), con una menor solubilidad en agua, y por último, los seleniuros (Se^{-2}) y el Se elemental (Se^0), no disponible para los forrajes (Alloway, 2013).

El selenato es el estado de oxidación más estable en álcalis y soluciones oxidantes. En cambio, el selenito es más estable en soluciones ácidas y en condiciones reductoras. El Se elemental, por calentamiento puede transformarse en óxido selenioso (SeO_2) gaseoso (Combs, 1986).

Los estados inorgánicos de selenitos y selenatos predominan en aguas naturales, mientras que las formas orgánicas Se-Met y Se-Cis son la mayor porción del mineral en vegetales y cereales (Barceloux, 1999).

3.2 Selenoproteínas

A diferencia de otros metales (Cu, Zn y Mn) que interactúan en proteínas como cofactores, el Selenio se encuentra incorporado en las cadenas de polipéptidos como parte de aminoácidos, en general con cisteína como Se-Cis o como residuos de Se-Cis. Las proteínas que contienen Se-Cis como parte integral de sus cadenas polipeptídicas son Se-P, y esta es la responsable de su actividad biológica.

Estudios realizados con Se radioactivo indican que habría más de treinta proteínas que contienen Se fuertemente fijado a ellas. La influencia benéfica del Se para la salud, es debida a estas Se-P, las cuales se resumen en la Tabla A.1 (Anexo) (Silva *et al.*, 2000).

3.2.1 Glutatión peroxidasa

Se hace una breve descripción de cuatro GPx de interés. A pesar de que cada una de

las cuatro glutatión peroxidasa (GPx) que se mencionan a continuación son distintas, en general, tienen por función catalizar la reducción de peróxidos que pueden causar daño celular, neutralizándolos a especies inocuas como agua y alcohol (Behne y Kyriakopoulos, 2001).

GPx1: Primera enzima caracterizada como Se-dependiente. Esta enzima cataliza la reducción del peróxido inorgánico y varios peróxidos orgánicos solubles utilizando como sustrato un tripéptido denominado glutatión. La GPx1 se aisló, por primera vez, de eritrocito bovino y de rata. Es una enzima que consiste en cuatro subunidades idénticas de Se-Cis de alrededor de 22 kDa. Se ha demostrado que los animales pueden sobrevivir sin el gen que codifica para GPx1, sugiriendo que esta enzima por sí misma no es esencial. Constituye una reserva de capacidad antioxidante que puede ser muy útil en condiciones de máximo estrés oxidativo. Esta enzima fue la primer Se-P en ser utilizada como indicador funcional en el análisis nutricional del mineral, ya que existe una alta correlación ($r=0,97$) con la concentración sanguínea de Se. Cuando hay deficiencia de Se, la actividad de la GPx1 cae (Ceballos *et al.*, 1998; Holben y Smith, 1999; Arteel y Helmut, 2001; Behne y Kyriakopoulos, 2001).

GPx2: Glicoproteína que se encuentra principalmente en plasma y es distinta de la citoplasmática GPx1, tanto en su estructura como por su lugar de acción. Fue aislada del plasma humano por Maddipati *et al.* (1987). Estudios realizados por hibridación indican que los lugares de mayor producción de esta enzima son los riñones y los pulmones. Es una enzima glicosilada, lo que indica que es una proteína secretoria liberada al plasma, que actuaría en la defensa de los tejidos frente a los peróxidos circulantes, pero su actividad antioxidante constituye solo el 10 % de la actividad de la GPx1. Es tetramérica con subunidades de aproximadamente 23 kDa. También puede utilizarse como indicador funcional para evaluar estatus de Se. Su significancia biológica aún no está del todo clara debido a que, en plasma, la concentración de glutatión es demasiado baja para servirle de sustrato para la actividad de la enzima (Holben y Smith, 1999; Silva *et al.*, 2000; Behne y Kyriakopoulos, 2001).

GPx3: Fosfolípido hidroperóxido glutatión peroxidasa, fue la segunda Se-enzima en ser identificada en mamíferos. Aislada por primera vez del citosol de hepatocitos de

cerdo, es diferente de las otras tres GPx mencionadas, ya que es liposoluble, es un monómero de aproximadamente 19,7 kDa y está estrechamente asociada con las membranas intracelulares. La actividad de esta enzima es más vulnerable ante deficiencias de Se que las de las otras GPx, lo que estaría indicando una mayor actividad antioxidante. La GPx3 puede directamente reducir fosfolípidos y colesterol hidroperóxidos. Así, fue considerada un factor primario en el sistema de protección contra destrucción oxidativa de biomembranas. Tiene una alta especificidad sobre hidroperóxidos. Otro rol significativo con el que se la vincula, que es solo cumplido por esta enzima, es en la espermatogénesis (Silva *et al.*, 2000).

GPx4: Glutación peroxidasa gastrointestinal que fue caracterizada en 1993. La GPx4 podría tener su principal acción protegiendo a los mamíferos de los hidroperóxidos lipídicos ingeridos con la dieta como también de los producidos por los enterocitos. Esta enzima es muy similar a la GPx1, ya que ambas son Se-enzimas citosólicas y consiste en 4 subunidades conteniendo Se-Cis ligeramente debajo de los 22 kDa (Silva *et al.*, 2000; Behne y Kyriakopoulos, 2001).

Por otra parte, es importante mencionar que la mayoría de las moléculas presentes en el organismo son químicamente estables, es decir, tienen un número par de electrones en su orbital externo; pero, existen otras cuyo número de electrones en el orbital externo es impar, estas sustancias químicas altamente inestables y reactivas se conocen como RL (Barquintero, 1992). Cuando un radical interactúa con una sustancia estable, toma de ella un electrón cargando positivamente de la molécula; así, el compuesto estable (no radical) se convierte en un radical libre altamente agresivo, pudiendo generar más radicales, dando lugar a una reacción en cadena (Halliwell, 1992). Tal es lo que sucede con el oxígeno (O₂), aun siendo esencial para la vida, es también tóxico por ser una sustancia oxidante ya que puede aceptar electrones desestabilizando la molécula que lo pierde; por lo tanto, se producen los denominados RL, entre los que se cuentan el anión superóxido (O₂⁻)¹, radicales hidroxilo (OH[·]) y radicales *alkoxy* (RO[·]). Otras moléculas, como el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), no son RL; pero, químicamente se comportan como oxidantes (Barquintero, 1992; Halliwell, 1992). Existen otras fuentes de MOR como las reacciones inflamatorias, la degradación de los ácidos grasos, la acción del citocromo

P-450 o en forma ocasional durante el metabolismo de ciertas sustancias exógenas (Miller *et al.*, 1993).

Bajo condiciones normales el organismo puede neutralizar la capacidad reactiva de los MOR por la acción del sistema antioxidante, pero hay momentos en que se supera la capacidad antioxidante quedando el organismo expuesto a la acción de los metabolitos oxigenados en lo que se conoce como estrés oxidativo (Miller *et al.*, 1993).

3.2.2 Otras Selenoproteínas

Selenoproteína P (Se-PP): Identificada como una Se-P plasmática en los años 70. Su nombre se debe a su ubicación plasmática. Se-PP es una glicoproteína que contiene más de 10 residuos de Se-Cis en una cadena polipeptídica de unos 43 kDa. Representa alrededor del 60 al 80 % del Se plasmático en humanos y roedores. Se le adjudicó la función de transportadora de Se en sangre, dada la alta concentración de Se.Cis por molécula. Estudios realizados en 2002 confirmaron este rol, ya que la adición de Se-PP purificada fue efectiva para recuperar la actividad celular de la GPx. Se ha sugerido, también, que podría tener alguna función de defensa antioxidante en plasma, ya que puede contribuir a la descomposición del peroxinitrito (ONOO^-) *in vitro*. Por otro lado, estudios realizados en ratas vincularon a la Se-PP con la protección contra necrosis hepática y peroxidaciones lipídicas. A su vez, cuando se limita la suplementación con Se, la síntesis de la Se-PP ha mostrado ser prioritaria comparada con la síntesis de la GPx (Holben y Smith, 1999; Surai, 2006).

Selenoproteína W (Se-PW): Proteína de bajo peso molecular, entre 9,5 y 10 kDa, purificada a partir de músculo de rata, y que contiene Se como Se-Cis. Su nombre se debe a la asociación con la enfermedad del músculo blanco. Este es un desorden metabólico del ganado que se caracteriza por una miositis y/o miocarditis degenerativa-necrotizante que puede ser aliviada por suplementación con Se. Los niveles de la Se-PW son afectados por el nivel de Se en la dieta, y también la Se-PW tendría un rol en la protección antioxidante (Holben y Smith, 1999; Pappa *et al.*, 2006).

Selenofosfato-sintetasa (Se-PSin): Vinculada a la incorporación de Se-Cis dentro de las Se-P y directamente vinculado al código genético. Específicamente la Se-PSin cataliza la reacción que produce monoselenofosfato, un dador biológico de Se que lo mantiene biodisponible (Holben y Smith, 1999; Surai, 2006).

3.3 El Selenio en el suelo

El suelo es la principal fuente de Se para las plantas y, por lo tanto, también lo es para los animales que las consumen. Altas concentraciones de Se se encuentran principalmente en suelos sedimentarios (por ejemplo, en la pampa húmeda), mientras que las más bajas concentraciones son características en suelos con rocas ígneas, areniscas, granitos o piedras calizas (en los suelos cordilleranos). Toda vegetación que crezca en suelos con elevado contenido de Se soluble, tendrá mayor concentración de este elemento superior a lo normal (Raisbeck, 2000).

En el nordeste argentino, las zonas más afectadas por el déficit de Se son el norte y sur de Santa Fe, Chaco, Formosa, Santiago del Estero y Entre Ríos (Coppo *et al.*, 1999). En Córdoba se detectaron carencias de zinc, magnesio, calcio y Se, este último inculcado por provocar baja fertilidad en el ganado (Fader *et al.*, 2012).

El Selenio se encuentra en distintas formas (Se elemental, selenuro, selenato, selenito, Se orgánico), las cuales están determinadas por sus estados de oxidación. Dichas formas determinan su solubilidad y disponibilidad, donde selenato, selenito y Se orgánico (Se-Met, Se-Cis, etc.) son las más solubles. Tanto el selenato como el selenito son las formas predominantemente absorbidas por las plantas; no obstante, el selenato es la forma más móvil dentro de la planta. El selenato es absorbido en la raíz por transportadores de sulfatos, localizados en la membrana plasmática de la célula. Cuando la planta absorbe selenito gran parte se convierte en compuestos orgánicos (como la Se-Met) antes de ser translocados en el xilema. El selenato dentro de la planta puede metabolizarse mediante los mismos mecanismos que el sulfato, debido a que el Se y el azufre son químicamente similares. El selenato al ser muy móvil se transloca rápidamente de las raíces a las hojas y se almacena en los cloroplastos antes de reducirse a otros compuestos proteicos (Se-Met, Se-Cis), no proteicos (como la Se-metilselenocisteína), volátiles (dimetilselenuro o dimetildiselenuro) o formas inorgánicas (sin sufrir modificación alguna) (Figura 3.1) (Intagri, 2018).

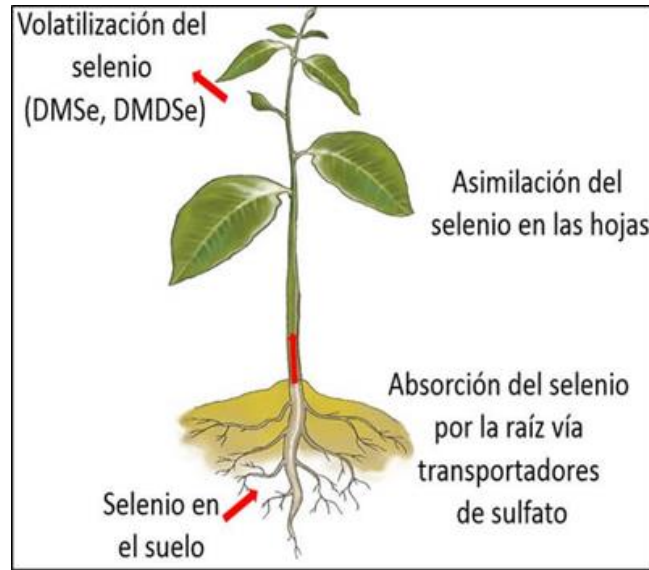


Figura 3.1. Transporte de Se, desde su absorción del suelo por la raíz mediante transportadores de sulfato hasta su volatilización como dimetilselenuro (DMSe) y dimetildiselenuro (DMDSe) (Extraído de Intagri, 2018).

La disponibilidad del Se para plantas depende de muchos factores incluyendo el pH, el potencial de óxido-reducción, la composición mineral del suelo, el rango de fertilización artificial y el régimen fluvial del suelo. Dichos factores condicionan la forma de Se que predominaría (Figura 3.1) (Barceloux, 1999). Entre estos y otros factores, la transferencia de Se del suelo a la planta dependerá del tipo de suelo, de la concentración de Se en suelo, de la forma de Se en suelo, e la especie forrajera y del estado fisiológico de la planta.

La disponibilidad del mineral depende más de su forma que de su concentración en el suelo. Así, el proveer una adecuada cantidad de Se en la dieta del rumiante es difícil de asegurar, ya que las concentraciones de Se pueden variar ampliamente entre alimentos y forrajes, dependiendo de la especie, estación y contenido del Se en el suelo (Barceloux, 1999).

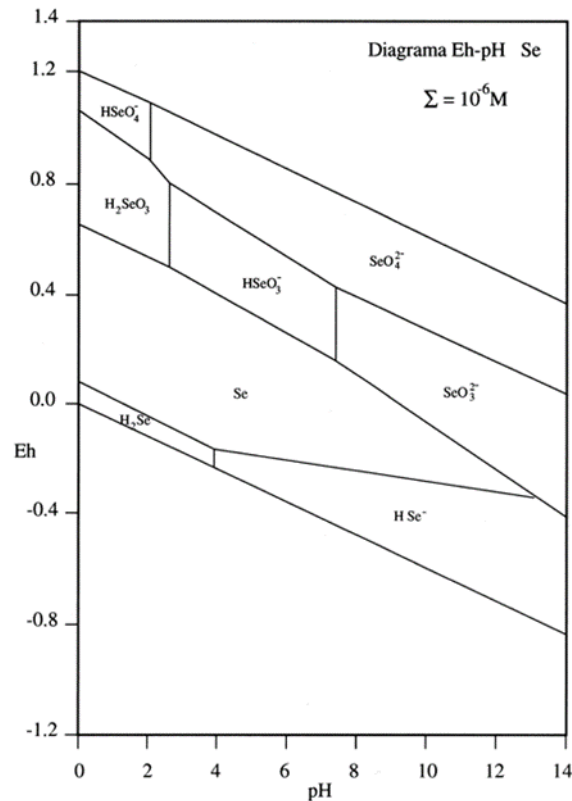


Figura 3.2. Formas químicas de Se en función del pH del suelo (Barceloux, 1999).

3.4 Metabolismo del Se en los rumiantes. Absorción.

El Selenio se absorbe en el intestino delgado, sin absorción en el rumen (Wright *et al.*, 1966). Existen varios factores que afectan la eficiencia de la absorción del Se. Estos incluyen la forma del elemento, la cantidad ingerida y otros factores dietéticos como calcio, arsénico, cobalto y azufre, que pueden disminuir la absorción de Se en más del 50% (Surai, 2006; Spears, 2003; Goff, 2018). Se ha demostrado que los microorganismos del rumen convirtieron significativamente más Se de SS en formas insolubles e inorgánicas en comparación con el uso de Se-Met (Peter *et al.*, 1982). El uso de Se etiquetado ha demostrado que la absorción y retención de Se orgánico por los microorganismos ruminales es cinco veces mayor que para las fuentes inorgánicas (Mainville *et al.*, 2009), lo que se atribuyó al hecho de que el SS se reduce a Se elemental, lo que lo hace indisponible para el animal. De hecho, las fuentes de Se orgánico experimentan una alteración considerablemente menor en el rumen, lo que resulta en una mejor disponibilidad.

Después de la absorción, el Selenio se extrae rápidamente del plasma por el hígado con un retorno posterior al plasma en una forma cuya cinética es diferente del Se dietético. Posteriormente, la selenita entra en las células y se reduce a hidruro de seleniuro, que se usa para sintetizar Se-Met (Weiss, 2005). Cuando el Se proviene de fuentes orgánicas, el Se-Met entra en la reserva metabólica general de proteínas como un imitador de la metionina, y se retiene bien en los tejidos. En el caso de Se-Cis, primero se requiere una reducción a seleniuro de hidruro y luego se usa para la síntesis de enzima Se, y se retiene menos en los tejidos (Combs, 2001). Si el Se-Cis se absorbe de la dieta, no se puede insertar directamente en el sitio activo de las selenoenzimas porque no tiene el ARNt específico para determinar la posición de inserción (Weiss, 2005). La incorporación de Se en Se-P específicas facilita la transferencia al tejido fetal, permite una mayor incorporación a la leche y hace posible un suministro de reserva a medida que se reemplazan las células musculares. Se cree que las funciones biológicas del Se están mediadas por al menos 25 Se-P con funciones conocidas, donde Se-cys se requiere en la catálisis redox, y no todas ellas actúan como parte del sistema antioxidante. La regulación y síntesis de Se-P se ve afectada por la ingesta subóptima de Se, y cada Se-P se ve afectada de manera diferente. Además, la falta de metionina en la dieta también afecta el metabolismo de los selenoaminoácidos. Cuando la ingesta de metionina es un factor limitante en la dieta, se incorpora un aumento significativo en el porcentaje de Se-Met en proteínas corporales inespecíficas para la metionina porque el metionina-tRNA no puede distinguir entre metionina y Se-Met (Whanger, 2002).

La respuesta de las Se-P (entre ellas, la de la GPx) a la privación y repleción de Selenio se caracteriza por un estilo jerárquico, lo que significa que el Selenio se incorpora preferentemente en algunas Se-P dependiendo de la importancia de la función fisiológica que tenga. Por lo tanto, algunas Se-P responden rápidamente a la falta de Se en la dieta con una pérdida de actividad; otras permanecen estables cuando la deficiencia es moderada y solo disminuyen con el agotamiento prolongado y sustancial de Se.

Una restricción dietética de Se puede afectar varias funciones metabólicas; sin embargo, la actividad de las Se-P en tejidos específicos (sistemas endocrino y nervioso) puede permanecer sin cambios. Por ejemplo, bajo la privación de Se, la

actividad de las Se-P en el hígado, los riñones y los pulmones disminuye, mientras que las actividades que se exhiben en el cerebro permanecen a un nivel similar al de la ingesta normal de Se. La GPx citosólica disminuye bajo la restricción de Se cuando la mayoría de las Se-P todavía se encuentran cerca de los valores de expresión normales.

3.5 Transporte

Después de la absorción, los compuestos hidrosolubles de Se son rápidamente distribuidos a diversos órganos. La Se-Met del alimento ingresa al pool de metionina, parte de la cual puede convertirse en Se-Cis mediante una liasa y adenosil metionina. La Se-Cis es rápidamente incorporada en Se-P en el hígado, para luego ser exportada al plasma desde donde puede llegar a diversos tejidos para ser incorporada a otras Se-P con actividad biológica (GPx, TR, DI, etc.). En el caso del Se que llega a la médula ósea será incorporado a los eritrocitos durante la eritropoyesis como GPx1. Así, la concentración de Se biodisponible y la magnitud de la eritropoyesis determinan la actividad de la GPx1 en sangre entera. También se encuentran elevadas concentraciones de Se en riñones, aunque es el menos afectado ante situaciones de deficiencia (Van Metre y Callan, 2001).

Una vez dentro de los glóbulos rojos, el Se permanece por el lapso de vida de dichas células. El contenido de Se en sangre entera está representado, en gran medida, por el Se en glóbulos rojos, en menor medida por el Se en suero, y con un insignificante aporte por el Se en glóbulos blancos (Van Metre y Callan, 2001).

3.6 Excreción

El Selenio se excreta del cuerpo a través de la leche, la exhalación, la orina, la excreción endógena y las heces. Esta última es la vía de excreción más importante en rumiantes como consecuencia de la extensa reducción de minerales por microbios ruminales, que convierten el Se en seleniuros insolubles. La excreción fecal total puede alcanzar hasta el 68% de la ingesta de Se, donde el Se endógeno representa entre el 22% y el 36% de la excreción fecal. La variación puede estar relacionada con la cantidad de ingesta de materia orgánica, ya que existe un acuerdo general de que la excreción fecal de Se es más sensible a la ingesta de materia orgánica que a la

ingesta de Se en sí. La orina es otra ruta importante para la excreción del Se, pero requiere una transformación metabólica en seleniuro de trimetil. Además, se excretan cantidades significativas de Se en el tracto digestivo, donde las posibles vías de esta pérdida endógena son la saliva, la bilis y otras secreciones gastrointestinales. La excreción biliar en el ganado es menos importante, pero puede ser mayor a medida que aumenta la ingesta de materia orgánica (representa aproximadamente el 0,2%). El Se puede ser excretado desde el cuerpo por exhalación de metil-selenol (CH_3SeH), excreción urinaria o fecal. En monogástricos y pre-rumiantes la principal ruta de excreción de Se es la vía urinaria, pero en rumiantes, la vía de eliminación depende del método de incorporación. En caso de la administración oral, y como resultado de una neta reducción de las especies de Se en el rumen e intestino grueso, muchas de las especies de Selenio se eliminan por heces, como formas insolubles de Se. En contraste, cuando el Se es administrado intravenoso o subcutáneo, se eliminará más por orina (N.R.C., 1983; Van Metre y Callan, 2001).

3.7 Requerimientos de los bovinos

El N.R.C. (1989), definió el requerimiento de Se en valores de 0,3 mg/kg de MS en la dieta para todas las clases de ganado lechero. La mayoría de los datos que respaldan este requisito se generaron a partir de experimentos en los que se suministraron 0,3 mg de Se suplementario por kg de MS dietética (base MS) de modo que el Se dietético total osciló entre 0,35 y 0,40 mg/kg. La nutrición adecuada con Se de los animales lecheros al final de la gestación es importante para prevenir trastornos peri-parto y también para garantizar que el ternero nazca con el Se adecuado. El requisito de N.R.C. (2001) de Selenio se estableció utilizando el enfoque del sistema de respuesta. La función inmunológica y la incidencia de la enfermedad clínica se utilizaron como variables de respuesta. Con base en los datos disponibles, el subcomité concluyó que la respuesta inmunitaria y la resistencia a enfermedades óptimas ocurrieron cuando las vacas fueron alimentadas con dietas que contenían alrededor de 0,3 mg/kg de Se suplementario. Dado que la concentración de Se suplementario que se puede agregar a las dietas está regulada y actualmente se establece en 0,3 mg/kg, las concentraciones dietéticas superiores a esta no se han evaluado de forma exhaustiva. Por último, como ya se mencionó, los requerimientos

del Se no han sufrido modificaciones según la última publicación de NASEM 2021 (Weiss, 2021).

Por otra parte, debido a las pérdidas de viabilidad del Se del alimento por la acción de microorganismos ruminales es que los requerimientos de los bovinos son mayores comparados con especies no rumiantes. Forrajes y granos, con un contenido por encima de 100 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$ MS) de Se se consideran adecuados para bovinos para carne en cría extensiva y vacas en lactancia temprana. Dicho valor debería aumentar hasta 300 ppb al aumentar los requerimientos productivos y/o fisiológicos del animal: terneros, vacas lecheras de alta producción y animales de feedlot (N.R.C., 1983; N.R.C., 1996; Radostits *et al.*, 2007).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Caracterización de los establecimientos lecheros utilizados

4.1.1 Ubicación

El trabajo se realizó en dos establecimientos lecheros comerciales, los cuales serán identificados a lo largo del presente trabajo como: E1 y E2. Ambos se encuentran ubicados en las proximidades de la localidad de Centeno (32°18'00"S 61°25'00"O), departamento San Jerónimo, sobre la ruta nacional 34 a la altura del Km 98, en la provincia de Santa Fe, Argentina. Centeno se encuentra en la Cuenca Lechera denominada Santa Fe Sur, una de las dos cuencas lecheras de la provincia. Ambas cuencas, junto a la cuenca de Córdoba constituyen las más importantes de la República Argentina (Mancuso *et al.*, 2008).

El suelo que poseen los establecimientos es de la serie Clason (sin limitaciones). Se trata de un suelo clasificado taxonómicamente como Argiudol típico, profundo con un espesor de solum de 1,40 m, bien drenado, desarrollado en pendientes de hasta el 1% como así también en áreas más planas (Hein *et.al.*, 1989).

4.1.2 Descripción del sistema productivo

Los sistemas productivos presentan características comunes a la mayoría de las empresas lecheras distribuidas en el sur de la provincia de Santa Fe, pero como característica distintiva los establecimientos E1 y E2 poseen las vacas en sistema de corral seco abierto con pendiente o "drylots" y toda la alimentación se lleva a sus respectivos corrales. Las vacas se ordeñan dos veces al día. El sistema de ordeño de estos establecimientos es el denominado espina de pescado con doce bajadas y retiradores de pezoneras automáticos.

Los establecimientos cuentan con corrales de alojamiento y agua, manga y cepo en muy buenas condiciones para realizar los muestreos y maniobras básicas que garantizan las pautas mínimas de manejo.

En ambos establecimientos se realiza inseminación artificial mediante la utilización de semen congelado de Holstein Americano y Canadiense, control lechero oficial y se dispone de un software para el registro de toda la información productiva y reproductiva de cada animal. El manejo reproductivo de los animales está a cargo de

los médicos veterinarios asesores, que son los responsables de la salud reproductiva de las vacas.

4.1.3 Alimentación

El sistema de alimentación que se utiliza es el de ración parcialmente mezclada. La alimentación para ambos establecimientos se realiza en un acoplado distribuidor y mezclador de alimento (Mixer) donde se introducen distintas proporciones de alimentos según la categoría que se va a alimentar. Para el forraje fresco se utiliza un carro forrajero. Las materias primas son las mismas para las vacas en ordeño (VO) y preparto (Pre-P), solo las proporciones son las que cambian en función de los requerimientos nutricionales. Los alimentos utilizados son alfalfa (*Medicago sativa*), en forma de alfalfa fresca, silaje de alfalfa y heno de alfalfa; ray grass (*Lolium perenne*) en forma de henolaje o corte directo, expeller de soja se lo utiliza como concentrado proteico y al grano de maíz como concentrado energético. Como fuente de fibra de alta calidad se utiliza el silaje de maíz planta entera y como fuente de fibra de menor calidad la paja de trigo. Para cada categoría se utilizan dos pre-mezclas minerales (premix) distintas, una corresponde a las VO (premix Lechera) y la otra para la categoría Pre-P (premix Pre-P). La composición química centesimal de las premix se detalla en la Tabla 4.1. En el E1 se incorpora suplementación mineral en forma de premix, tanto en Pre-P como así también en las VO de manera diaria, y en el E2 no se incorpora dicha suplementación mineral (Tabla 4.2).

Tabla 4.1. Composición química centesimal de las premix utilizadas para cada categoría: VO (vaca ordeñe) y Pre-P (preparto)

| Información química centesimal | VO | Pre-P | Unidades |
|--------------------------------|--------|--------|----------|
| Calcio | 24 | 22 | % |
| Sodio | 7 | | % |
| Cloro | 11 | 24 | % |
| Azufre | | 6 | % |
| Magnesio | 1,5 | | % |
| Vitamina A | 320000 | 280000 | UI/Kg |
| Vitamina D3 | 64000 | 56000 | UI/Kg |
| Vitamina E | 400 | 5000 | UI/Kg |
| Zinc | 1840 | 1600 | ppm |
| Manganeso | 1800 | 1600 | ppm |
| Cobre | 680 | 480 | ppm |
| Cobalto | 10 | 6 | ppm |
| Selenio | 23 | 13 | ppm |
| Yodo | 25 | 16 | ppm |
| Monensina | 1200 | 1000 | ppm |

Tabla 4.2. Ingredientes que componen la ración de la categoría VO (vaca ordeñe) y Pre-P (preparto) en cada establecimiento

| Establecimiento | E1 | | E2 | |
|-------------------------|----------|-------------|----------|-------------|
| | Kg Ms/VO | Kg Ms/Pre-P | Kg Ms/VO | Kg Ms/Pre-P |
| Materias Primas | | | | |
| Maiz | 5 | 2 | 5 | 2 |
| Expeller de soja | 3 | 1 | 3 | 1 |
| Premix Lechera | 0,3 | | | |
| Alfalfa Fresca | 9 | | 9 | |
| Silo Maiz planta entera | 3 | 4 | 3 | 4 |
| Premix Pre-Parto | | 0,3 | | |
| Heno de paja de trigo | | 5 | | 5 |
| Total | 20,3 | 12,3 | 20 | 12 |

4.1.4 Rutina de ordeñe

Se realizan dos ordeñes diarios, uno a las 3:00 am y el otro a las 3:00 pm. En el verano las vacas se encierran dos horas antes de comenzar el ordeñe para refrescarlas con un ciclo de 40 segundos de mojado mediante una lluvia de gotas gruesas y 4 minutos de ventilación forzada. Esto se realiza de manera diaria en el pre-ordeñe. Una vez

terminado el “refrescado” pasan en grupos hacia la fosa donde se encuentra el tambero y se acomodan a 45°. Cuando el grupo de animales ocupa cada lugar asignado se comienza con la limpieza de la ubre y más específicamente los pezones para comenzar el ordeño. El tiempo de ordeño depende de la cantidad de leche que tenga cada vaca y mediante retiradores automáticos se desprende la garra con las pezoneras dando fin al ordeño. De esta manera se evitan sobre-ordeños que pueden causar lesiones en la glándula. Luego que terminan de ser ordeñadas, se higieniza la zona de la ubre nuevamente y se dirigen hacia el corral pos- ordeño, en donde únicamente cuentan con agua fresca. Una vez que se termina de ordeñar la última vaca, se dirigen al patio de comidas, en donde encuentra el alimento ofrecido por el mixer. Mientras los animales son ordeñados, se comienza con el preparado de la alimentación de las vacas en ordeño. A medida que la rutina de ordeño finaliza el mixer comienza con la descarga en los comederos “bateas”, de esta manera siempre las vacas poseen alimento fresco para ser consumido. La mayor concentración de alimento se ofrece luego del ordeño de la tarde (Tabla 4.3).

Tabla 4.3. Aportes de Se en alimento de VO y Pre-P en E1 y E2

| ESTABLECIMIENTO | E1 | | E2 | |
|---|------|-------|-------|-------|
| | VO | Pre-P | VO | Pre-P |
| Categoría Animal | | | | |
| Aportes de Se (Mg/Kg Ms) | 0,72 | 0,53 | 0,66 | 0,26 |
| Consumo (Kg Ms) | 20,3 | 12,3 | 20 | 12 |
| Ingesta Neta de Selenio (mg totales) | 14,6 | 6,51 | 13,21 | 3,08 |
| Requerimientos de acuerdo al consumo (mg/día) | 6,39 | 3,69 | 6 | 3,6 |
| Balance Neto de Se (mg/día) | 8,23 | 2,83 | 7,2 | -0,48 |

|

4.1.5 Rutina de trabajos de campo

El total de vacas está dividido en tres categorías: vacas secas, vacas Pre-P y las VO. Una vez que logran el octavo mes de gestación ingresan al corral de Pre-P, en donde se les ofrece heno de paja de trigo, grano de maíz, expeller de soja y la premix correspondiente a Pre-P con sales aniónicas (E1). Esta misma preparación se realiza en el E2, salvo que no se utiliza la suplementación mineral Pre-P con sales aniónica. Una vez que las vacas paren, se las cambia de corral, quedando dos días en un corral

aparte para lograr buen calostrado en el ternero nacido, y una vez que se asegura el consumo de calostro la vaca esta lista para comenzar a ser ordeñada.

Al rodeo lechero se le prepara la ración dentro del mixer. El forraje fresco de alfalfa se le ofrece una vez que logran el consumo de la ración parcialmente mezclada. La ración completa se prepara dos veces por día, coincidiendo con la entrega de la misma una vez que las vacas salen de cada ordeño.

En el caso de las vacas que se encuentran en Pre-P la dieta se ofrece en un solo mixer por día, mezclando todos los forrajes dentro del carro por 7 minutos, y se les ofrece en los comederos.

4.2 Selección de las vacas a estudiar

4.2.1 Requisitos para la selección de las vacas a estudiar

- Período de Seca y Pre-P: solo se incluyeron aquellos animales que poseían información cierta de preñez para comenzar con el muestreo 45 ± 10 días previos al parto.
- Fecha de Parto: se utilizaron las vacas que tenían registro exacto de la fecha de parto, debiendo coincidir la estimación previa obtenida por el sistema digitalizado y el registro utilizado por el encargado de la sección.
- Pos-Parto: se incluyeron aquellos animales con un período Pos-P comprendido entre los 21 y 56 días en leche. El criterio de selección de dicho rango fue debido a la duración del puerperio de las vacas (21 días) y al tiempo promedio de espera voluntaria para la liberación de las vacas para servicio de 56 días (DeJarnette *et al.*, 2007). Las fechas de parto y Pos-P, se obtuvieron de la historia clínica digitalizada de cada vaca.

4.2.2 Animales seleccionados

Para el desarrollo de esta tesis se revisaron y evaluaron 2950 vacas lecheras adultas, entre las que estaban en producción y en el periodo de seca y Pre-P. Luego se identificaron las que se incorporarían al muestreo habiendo cumplido con los requisitos necesarios para llevar adelante el estudio.

Del total de las 2950 vacas analizadas sólo superaron los requisitos de selección 403 vacas que representaron el 14%, las restantes fueron descartadas por no cumplir con

una o varias de las pautas de selección. A su vez, para el análisis de las variables reproductivas y productivas se utilizaron 209 vacas (52% de los 403 animales muestreados inicialmente). La población objeto de estudio se redujo por diversos motivos como ventas, descartes, enfermedades y tratamientos ocurridos durante la lactancia en estudio, y/o incluso la muerte.

4.3 Suplementación de Se mediante bolos

Las vacas incluidas en el estudio se dividieron en dos grupos de análisis de acuerdo a la aplicación, o no, del bolo intraruminal de Se: Grupo Suplementado (GS) y Grupo Control (GC).

En el GS se utilizaron bolos intraruminales de liberación lenta de Se Permatrace® de la firma MSD, Animal Health, los cuales están compuestos por un 10% de Se elemental, contenido en una matriz de Óxido de Hierro. Cada bolo pesa 30 g y contiene 3 g de Se. Esta nueva tecnología permite una liberación sostenida y permanente en el tiempo, asegurando una entrega eficiente de Se mínimo por 12 meses. La puesta de los bolos se realizó con un aplicador de bolos Permatrace® para bovinos. Se carga el aplicador con dos bolos ejerciendo presión para deslizar cada bolo hasta la base de la boquilla. Se inmoviliza la cabeza del animal ingresándola al cepo que se ubica en el extremo de la manga situada en corrales de aparte o dentro de las instalaciones de los corrales de ordeño. Luego se le abre la boca y se introduce el aplicador entre el paladar y la lengua, haciendo tope contra los labios del animal. Una vez finalizada esta maniobra se aprieta el gatillo expulsando los dos bolos y dirigiéndose los mismos vía conducto esofágico hacia el rumen del animal (Figura 4.1). Una vez depositados ahí, el mismo roce de los bolos por los movimientos ruminales genera la liberación de Se de forma diaria.



Figura 4.1. Maniobra para la aplicación de los bolos de Se

4.4 Muestreos

Se realizaron tres muestreos de sangre a las vacas de ambos grupos bajo estudio. El primer muestreo se realizó 45 días Pre-P (-45 P), el segundo muestreo 15 días Pre-P (-15 P) y el tercer muestreo se realizó entre los 21 y 56 Pos-P. En todos los casos hubo una tolerancia de ± 10 días. Los muestreos se realizaron posterior al ordeño de la tarde, no alterando la rutina de trabajo. El primer muestreo coincidió con la puesta del bolo intraruminal de Se, en el grupo correspondiente. El tercero coincidió con el muestreo del flujo cervicovaginal (FCV) mediante la técnica de flujeo manual y se realizó también la prueba de cytobrush para diagnóstico de estado sanitario uterino (Figura 4.2). El flujo obtenido debió responder a las características de un FCV 0 de acuerdo a la clasificación de Runciman *et al.* (2009), siendo éste principalmente transparente y sin flóculos de pus. Previo a la salida al campo se definieron criterios de selección para determinar las vacas sobre las cuales se realizaría el muestreo del endometrio. De este modo, la obtención de datos y muestras solamente se realizó sobre aquellas vacas que el día de la visita cumpliera favorablemente con todos los requisitos de selección previstos. Al mismo tiempo que se cumplió con la revisión de los animales se completaron cada uno de los datos consignados en una planilla diseñada a tal efecto.



Figura 4.2. Muestreo de moco cervicovaginal mediante la técnica cytobrush

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena coccígea empleando una jeringa y aguja descartable por cada animal. Luego de cada extracción la sangre fue colocada en un tubo con anticoagulante (heparina). Las muestras se conservaron refrigeradas en tubos *ependorf* hasta realizar los análisis. La determinación de la actividad de la GPx se realizó en plasma, con el Kit de Randox (RANSEL) en el laboratorio Azul, provincia de Buenos Aires.

El valor de corte de GPx para el diagnóstico de enfermedades uterinas en nuestro país no está descrito, no obstante, ello, Bianchini *et al.* (2022) obtuvo como resultado el punto límite de 222 U/g Hb, superior al informado por Ceballos *et al.* (1998), en el que el mínimo tolerable es de 130 U/g Hb. La Tabla 4.4 provee una correlación aproximada del Se en sangre entera en mg/L con GPx, utilizando el Kit Ransel. Estos valores fueron elaborados por Veterinary Research Laboratories (Stormont, Belfast, UK.), para aplicar a bovinos y ovinos, y fueron considerados como valores normales en Irlanda del Norte.

Tabla 4.4. Estado del animal según los niveles de Se y valor de GPx correspondiente

| Estado del animal | Se (mg/L) | GPX,37°C (U/g Hb) | GPX,37°C(U/ml PCV) |
|-------------------|---------------|-------------------|--------------------|
| Deficiente | < 0,05 | < 60 | < 18 |
| Bajo | 0,051 - 0,083 | 61 - 100 | 18,5 - 30,3 |
| Marginal | 0,084 - 0,110 | 101 - 130 | 30,6 - 39,4 |
| Adecuado | > 0,11 | >130 | > 39,4 |

La evaluación del estado sanitario del útero se llevó a cabo analizando la presencia de endometritis clínica y subclínica en el período comprendido entre los 21 y 56 días Pos-P, en base a la técnica de observación de flujo, donde la presencia de flóculos de pus fue considerada como endometritis clínica y aquellas con flujo sin flóculos de pus fueron estudiadas a través de la técnica de diagnóstico complementaria conocida como cytobrush. El punto de corte utilizado para determinar la presencia de endometritis subclínica a través del cytobrush fue 5% de polimorfonucleares neutrófilos (Rinaudo *et al.*, 2012).

Se registró la fecha de concepción posterior al parto y se obtuvo el intervalo parto concepción en días (IPC).

Se registró la producción de leche ajustada a los 305 días durante el año de puesta de bolo, tanto en vacas primíparas y multíparas. Se evaluó estableciendo dos grupos de vacas por la producción láctea. Los grupos se conformaron de la siguiente manera: Grupo Alta, aquellas vacas más productoras o de alta producción, con una producción mayor a 24 litros de leche por día y el grupo Baja y Media, las vacas menos productoras o de menor producción, aquellas que tenían menos de 24 litros de leche diaria. En el caso de las vacas se registraron la cantidad de lactancias que estas tuvieron al momento de la puesta de bolos.

4.5 Variables estudiadas

❖ Variables Clínicas

- Actividad de la GPx: determinada en sangre sin coagular y expresada en U/g Hb.
- Se evaluó la dinámica de la actividad de la GSH-Px determinando si la misma aumentaba (curva ascendente) o disminuía (curva descendente) luego del parto, en relación a la concentración inicial al momento de aplicación del bolo.

❖ Variables Reproductivas

- Endometritis subclínica: vacas con un valor de polimorfonucleares mayor o igual al 5%, evaluada a través del cytobrush (equivalente a un resultado positivo en el mismo).

- Examen Reproductivo Clínico: definido con las categorías anormal/normal según la vaca presente o no endometritis clínica, pudiendo observarse también retención de membranas fetales (MFR).
- Intervalo Parto Concepción (IPC): días transcurridos entre el i-ésimo parto y la concepción.

❖ Variables productivas

- Producción de leche: litros producidos por vaca en la i-ésima lactancia.
- Condición o estado corporal: se obtuvo mediante la escala de valores del 1 a 5 descripta por Edmonson y Lean (1989).

4.6 Análisis estadístico

Se presenta el promedio acompañado del desvío estándar (DE) para describir las variables continuas y las frecuencias junto con los porcentajes para las variables categóricas. La comparación entre los grupos se realizó mediante test no paramétricos. Se utilizó el test U de Mann-Whitney y el test Chi-cuadrado de independencia, según correspondiera. Para analizar la concentración de la GSH-Px como predictora de patologías uterinas, se ajustó un modelo de regresión logística y se analizó el valor del AUC, la sensibilidad y la especificidad. Para estudiar la relación entre variables continuas se recurrió al coeficiente de correlación de Spearman. Para el procesamiento se utilizó R Core Team (2020). El nivel de significación utilizado fue del 5%.

5. RESULTADOS

5.1 Punto de corte de la GPx

Al analizar la concentración de la GSH-Px como predictora de patologías uterinas, se encontró que la misma tiene una capacidad predictiva relativamente buena ($AUC=0,549$). El punto de corte óptimo fue de 222 U/g Hb con una sensibilidad del 81.4% y una especificidad del 33,9%, es decir que por encima de dicho valor disminuyen notablemente las posibilidades de padecer patologías uterinas (Figura 5.1).

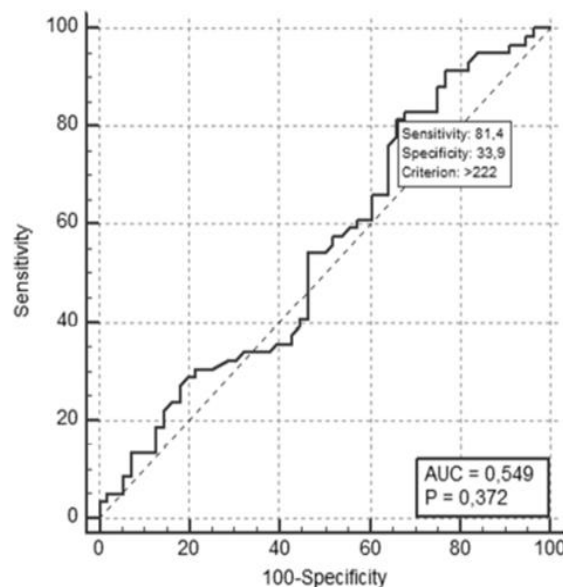


Figura 5.1. Curva ROC

5.2 Resultados clínicos

El valor promedio de concentración de GPx al momento de la puesta del bolo de Se en el E1 para el GS fue de 468 U/g Hb y para el GC fue 444 U/g Hb ($p=0,5739$). En el E2, estos valores fueron de 193 U/g Hb en el GS y de 197,5 U/g Hb en el GC ($p=0,8397$). Es decir, en ambos establecimientos al inicio del ensayo los dos grupos presentaban similares niveles de concentración de GPx. Asimismo, puede notarse una disparidad entre los valores basales al comparar los establecimientos entre sí, siendo el E2 el tambo con valores de concentración inferiores (Figura 5.2).

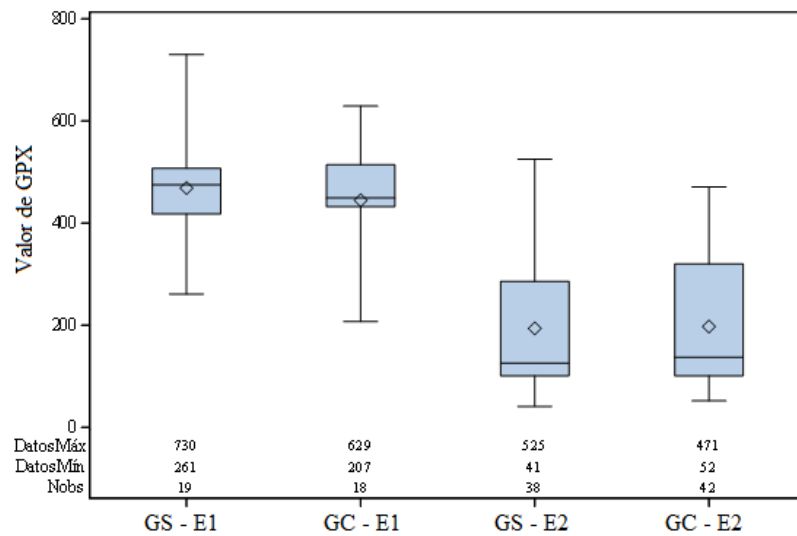


Figura 5.2. Concentración de GPx al momento de la incorporación del bolo intraruminal de Se según establecimiento y grupo

Se estudió la dinámica de la GPx para analizar su comportamiento en el periodo posterior a la puesta del bolo, pudiendo ser ascendente si aumentaba los valores de GPx posterior a la aplicación del bolo o descendente si disminuían los valores de GPx posterior a la aplicación del bolo. En relación a la dinámica de la GSH-Px, se demostró que el 82% de las vacas del GC presentaron una variación descendente de la concentración de GSH-Px mientras que en las vacas del GS este porcentaje fue significativamente menor, donde solamente un 17% de los animales tuvieron descenso GPx ($p < 0.0001$), y por el contrario manifestaron un efecto ascendente un 83 % (Figura 5.3).

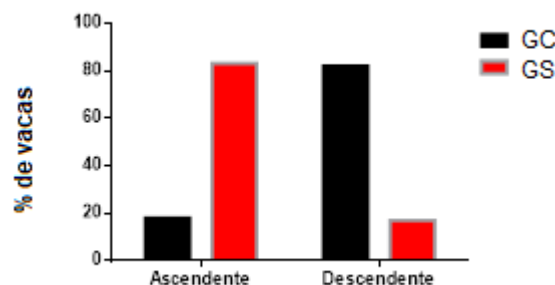


Figura 5.3. Variación Pos-P de la concentración de GSH-Px según grupo

5.3 Resultados reproductivos

En relación a la performance reproductiva se evaluó la interacción entre la variación ascendente o descendente de las concentraciones de la GSH-Px con la aparición de endometritis (clínica y subclínica), así como la frecuencia de retención de placenta. Sólo el 16% de las vacas con curva ascendente padeció endometritis Pos-P mientras que entre las vacas con curva descendente lo hizo el 50% ($p < 0,0001$) (Figura 5.4). En lo que respecta a la retención de placenta, ninguna de las vacas con curva ascendente manifestó esta patología; por el contrario, el 33% de las vacas con curva descendente presentó este problema ($p < 0,0001$) (Figura 5.5).

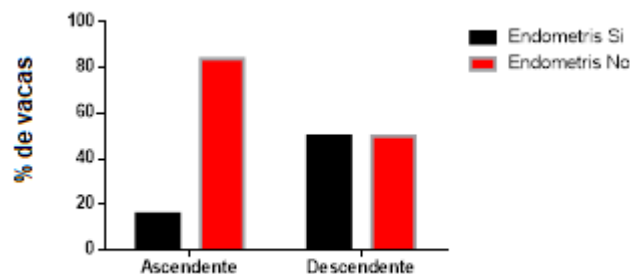


Figura 5.4. Ocurrencia de endometritis Pos-P según variación ascendente o descendente de las concentraciones de la GSH-Px

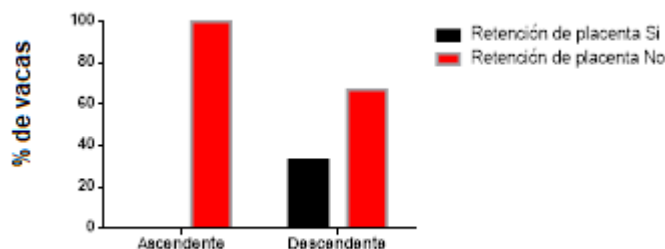


Figura 5.5. Ocurrencia de retención de placenta según variación ascendente o descendente de las concentraciones de la GSH-Px

Al estudiar el comportamiento de la concentración de GPx en relación al resultado del cytobrush no se encontraron resultados estadísticamente significativos ni en el Pre-P ($p = 0,772$) (Figura 5.6) ni en la medición del Pos-P ($p = 0,669$) (Figura 5.7).

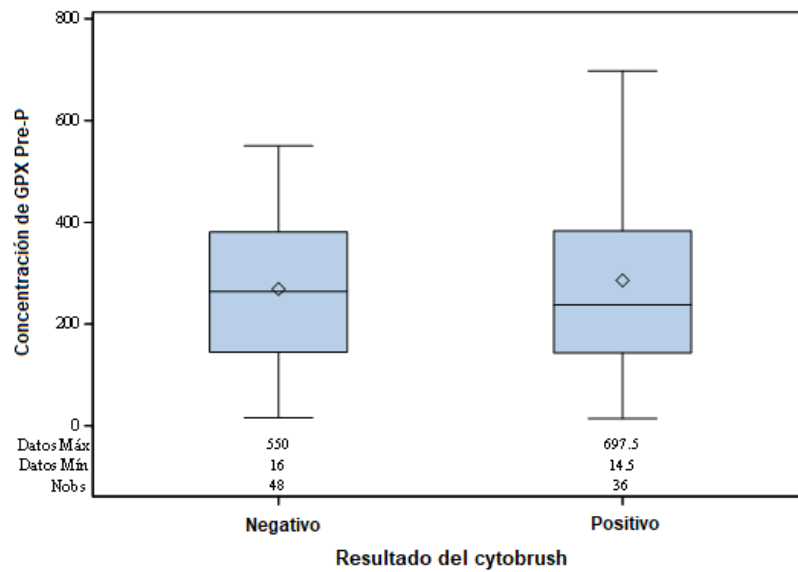


Figura 5.6. Distribución de la concentración de GPx Pre-P según resultado del cytobrush

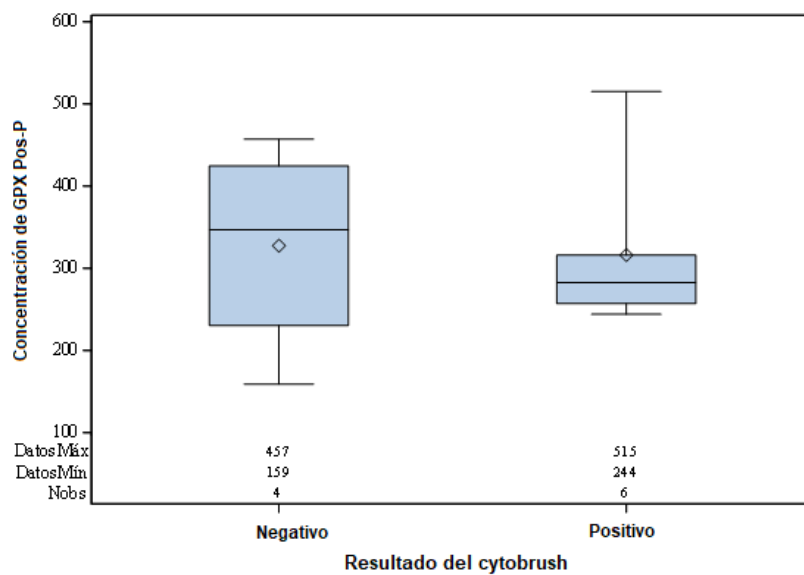


Figura 5.7. Distribución de la concentración de GPx Pos-P según resultado del cytobrush

En la Figura 5.8 se puede observar la distribución de la GPx Pos-P en relación al examen reproductivo clínico. No se encontró una relación entre el resultado de dicho examen y los valores de GPx Pos-P.

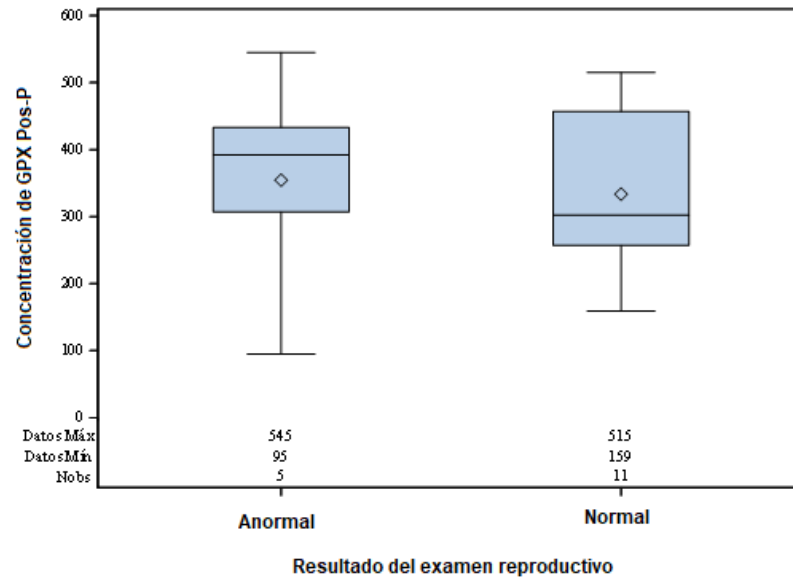


Figura 5.8. Distribución de la concentración de GPx Pos-P según examen reproductivo clínico

Como último punto dentro del análisis reproductivo, puede comentarse que no se encontró una asociación significativa entre la concentración de GPx promedio Pre-P y el IPC en los datos analizados ($p=0,335$) (Figura 5.9).

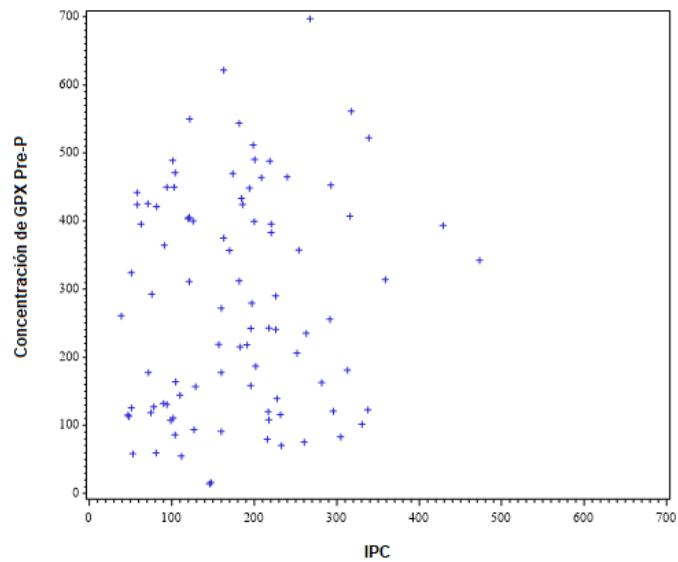


Figura 5.9. Distribución de la concentración de GPx Pre-P según IPC

5.4 Resultados productivos

El 77% de las vacas de alta producción tuvieron una curva ascendente de la concentración de GSH-Px, mientras que este porcentaje fue significativamente menor entre las vacas de baja y media producción (62%) ($p=0,0311$) (Figura 5.10).

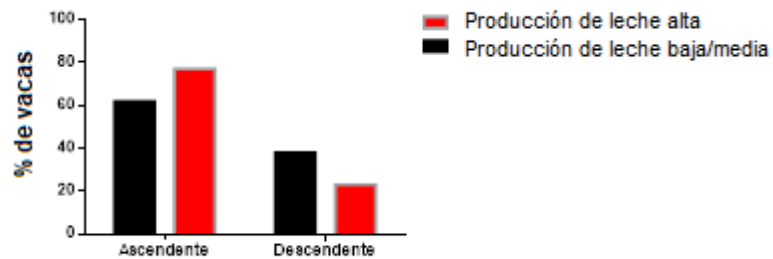


Figura 5.10. Producción de leche según variación ascendente o descendente de las concentraciones de la GSH-Px

Se halló una relación directa y significativa entre los valores de la producción láctea y la concentración de GPx promedio Pre-P (coef. de correlación de Spearman: 0,26; $p=0,023$) (Figura 5.11).

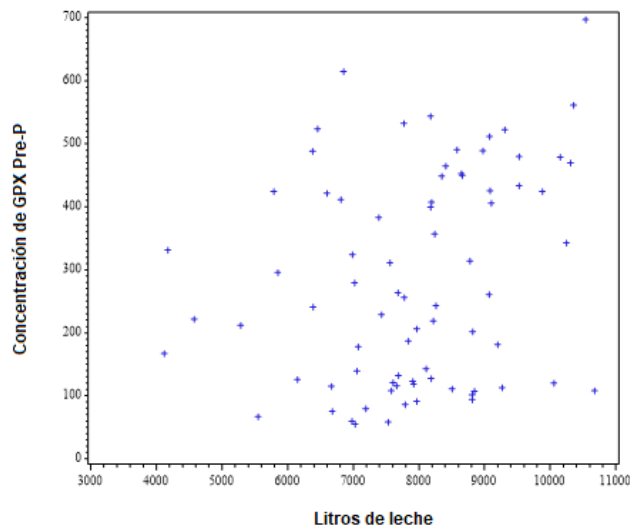


Figura 5.11. Distribución de la concentración de GPx Pre-P según producción (litros de leche)

Por último, se analizó la posible relación existente entre la concentración de GPx promedio Pre-P y el estado corporal, sin encontrarse resultados significativos ($p=0,584$) (Figura 5.12).

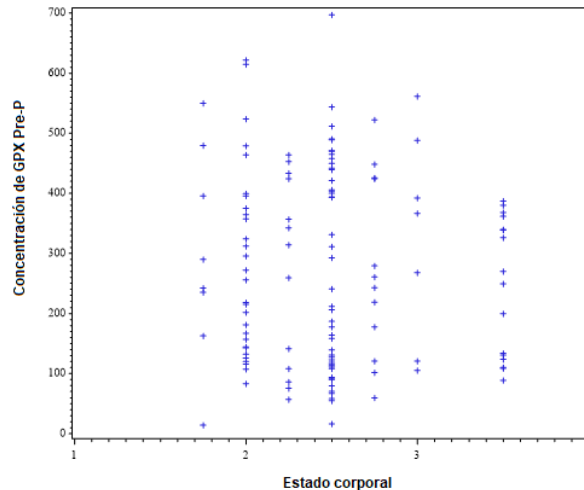


Figura 5.12. Distribución de la concentración de GPx Pre-P según estado corporal

5.5 Alimentación

En la Tabla 5.1 se presentan los resultados de laboratorio cuantificando los niveles de Se en la tierra, agua y en cada uno de los componentes de las dietas de las vacas (tanto las de ordeño como Pre-P).

De acuerdo a las dietas elaboradas para cada rodeo, el aporte de Se es diferente en cada categoría. En la Tabla 5.2 se ve reflejada la cantidad de Se que es aportado en función de los diferentes ingredientes que participan en la elaboración de la ración. Por ejemplo, las VO con aporte de sales enriquecidas con Se logran obtener 0,72 mg de Se por vaca por día, y para la misma categoría sin aportes de sales con Se, obtienen 0,66 mg de Se por vaca por día. En el caso de los aportes de Se para los rodeos Pre-P, cuando los animales consumen la dieta con aportes de sales con Se, obtienen 0,53 mg de Se por día, y en el caso de las Pre-P sin suplementación, solo reciben 0,26 mg de Se. Los aportes de Se en la dieta de vaca Pre-P sin suplementación son insuficientes para cubrir los requerimientos nutricionales diarios de Se.

Tabla 5.1. Cuantificación de los niveles de Se en tierra, agua y en cada componente de la dieta de las vacas

| MUESTRA | RESULTADO | UNIDAD |
|--------------------|-----------|--------|
| Tierra | 1,41 | mg/Kg |
| Agua | 0,86 | µg/L |
| Heno Paja trigo | 0,005 | mg/Kg |
| Rollo de Alfalfa | 1,14 | mg/Kg |
| Maiz humedo | 0,38 | mg/Kg |
| Expeller Soja | 1,81 | mg/Kg |
| AB P-P C/A | 1,82 | mg/Kg |
| Premix Lechera | 6,22 | mg/Kg |
| Pastura de Alfalfa | 0,56 | mg/Kg |
| Silo Maiz | 0,12 | mg/Kg |

Tabla 5.2. Cuantificación de los aportes de Se en las dietas con aportes y sin aportes de Se en vacas ordeñe (VO) y Pre-P (preparto)

| Materia Primas | Dietas con aporte de Se | | | | Dietas sin aporte de Se | | | |
|----------------------------|-------------------------|-----------------|--------------|-----------------|-------------------------|-----------------|--------------|-----------------|
| | Kg Ms/ VO | Kg Ms/ Pre-P | mg Se/ VO | mg Se/ Pre-P | Kg Ms/ VO | Kg Ms/ Pre-P | mg Se/ VO | mg Se/ Pre-P |
| Maíz | 5,00 | | 1,90 | | 5,00 | 2,00 | 1,90 | 0,76 |
| Expeller de soja | 3,00 | | 5,43 | | 3,00 | 1,00 | 5,43 | 1,81 |
| Premix Lechera | 0,30 | | 1,87 | | | | | |
| Alfalfa fresca | 9,00 | | 5,04 | | 9,00 | | 5,04 | |
| Silo maíz planta entera | 3,00 | 4,00 | 0,36 | 0,48 | 3,00 | 4,00 | 0,84 | 0,48 |
| AB P-P C/A | | 3,30 | | 6,01 | | | | |
| Heno de Paja de trigo | | 5,00 | | 0,03 | | 5,00 | | 0,03 |
| Total Kg Ms/día | 20,30 | 12,30 | | | 20,00 | 12,00 | | |
| Total Se (mg/día) | | | 14,60 | 6,52 | | | 13,21 | 3,08 |
| Total Se (mg/Kg Ms) | | | 0,72 | 0,53 | | | 0,66 | 0,26 |

6. DISCUSIÓN

El presente estudio se enfocó en analizar el impacto de la suplementación con Se en vacas lecheras en dos establecimientos del sur de la provincia de Santa Fe, sobre dos ejes principales: la performance reproductiva y productiva. Dentro del eje reproductivo, un aspecto de gran relevancia en la práctica es el punto de corte en los valores de la GPx a partir del cual se espera observar problemas reproductivos en los animales. En este sentido, se ha seguido históricamente las recomendaciones presentadas por el kit de RANDOX en el que clasifica al estado del animal en cuatro categorías diferentes, deficiente, bajo, marginal y adecuado (Tabla 4.4). Estos valores fueron elaborados por Veterinary Research Laboratories (Stormont, Belfast, UK.), presentando como punto de corte el valor de 130 U/g Hb para aplicar a bovinos y ovinos, y son considerados como valores normales en Irlanda del Norte. En otras regiones, virtud de las diferentes dietas, pueden registrarse valores diferentes.

El valor de corte de GSH-Px para el diagnóstico de enfermedades uterinas no estaba descrito en nuestro país, no obstante, de ello, la única referencia utilizada era la de Ceballos (1998) quién describió que el valor mínimo tolerable de la actividad de la GSH-Px fue de 130 U/gHb para vacas lecheras de Chile, siendo el valor que ha sido considerado como el límite bajo el cual habría una deficiencia marginal de Se.

Por lo citado anteriormente, se propuso un nuevo punto de corte para el valor de la actividad de la Gpx, que consiste en fijar un valor mínimo, por debajo del cual un individuo puede ser diagnosticado como enfermo. El presente trabajo tiene como innovador el haber hallado ese nuevo valor de referencia para la actividad de la GPx, que fue de 222 U/g Hb, superior al valor utilizado anteriormente, con una sensibilidad del 81,4% y una especificidad del 33,9%. Dicho valor sería el adecuado para región en estudio (Bianchini *et al.*, 2022) siendo el límite mínimo del valor de GPx, y si no fuese alcanzado, se podría desarrollar estrés metabólico, mostrando una mayor presencia de patologías uterinas y disminuyendo las posibilidades de conseguir la preñez antes de los 210 días. Por tal motivo, el aporte podría ser considerado como una herramienta complementaria de diagnóstico de patologías uterinas.

Villar *et al.*, 2002, interpretan los resultados del laboratorio en función de las patologías asociadas a dichos valores, es decir, no aplican un punto de corte para definir el status del Se. Los efectos clínicos de una deficiencia extrema de Se están asociados a una

miodegeneración y reducción en el crecimiento del animal, siendo dicho valor menor a 35 ppb en sangre y 9,7 ppb para plasma. En el caso de una deficiencia marginal de Se ésta se asocia a patologías sub-clínicas con pérdidas productivas como por ejemplo pérdida de fertilidad, aumento de infecciones en el periodo neonatal, mastitis y desordenes reproductivos (metritis, ovarios quísticos y retención de placenta). En este caso los valores asociados a una deficiencia marginal son menores a 150 ppb en el caso de mastitis, menor a 50 ppb para retención de placenta, menor a 60 ppb para ovarios quísticos y menor a 150 ppb para mastitis.

Se estudió la dinámica de la GPx para analizar su comportamiento en el periodo posterior a la puesta del bolo, pudiendo ser ascendente si aumentaban los valores de GPx posterior a la aplicación del bolo o descendente si disminuían los valores de GPx posterior a la aplicación del bolo, encontrándose una respuesta favorable a la suplementación de Se con los bolos intraruminales de liberación lenta.

En relación al aspecto reproductivo, Mikulková *et al.* (2020) mostraron una relación entre el estrés oxidativo y la metritis. El estudio se llevó a cabo utilizando 21 vacas lecheras Holstein con metritis y ocho vacas controles sanas, con una producción media de leche de 10249 litros, en una granja ubicada en el pueblo de Uherčice (Břeclav, Moravia del Sur, República Checa), durante cinco meses (abril-agosto de 2018). Todas las vacas fueron alimentadas con una ración total mixta (TMR) de acuerdo con el pre-parto y el posparto. La actividad de GPx en sangre total se midió con un kit RANSEL (Randox Laboratories Ltd., Reino Unido). No se observó una disminución en la actividad de GPx en vacas con metritis en comparación con vacas sanas. La razón por la que no se encontraron cambios en la actividad de GPx entre los grupos fue porque probablemente no se utilizó la concentración suficiente de Se. Por el contrario, Kizil *et al.* (2010), encontraron una disminución de la actividad de GPx en vacas con metritis puerperal aguda en comparación con un grupo de control, lo que indicó una disminución de la actividad de GPx en asociación con la peroxidación lipídica seguida de un deterioro en la condición de estrés oxidativo. Esto sugiere que las vacas con metritis en el posparto temprano están expuestas a un mayor grado de procesos oxidativos. Estos hallazgos también mostraron que la incidencia de metritis afectó negativamente la producción y la composición de la leche en las vacas lecheras.

La función del Se en la reproducción ha sido relacionado principalmente con la disminución de las muertes embrionarias en los primeros 20 a 30 días de gestación y con la salud uterina. La deficiencia de Se presenta un factor que favorece la aparición de metritis perinatal y retención de placenta en el ganado lechero (Mehdi et al., 2016). En relación a la performance reproductiva del presente trabajo, al evaluar la interacción entre la variación ascendente o descendente de las concentraciones de la GPx con la aparición de endometritis (clínica y subclínica), así como la frecuencia de retención de placenta, encontramos que sólo el 16% de las vacas con curva ascendente padeció endometritis Pos-P mientras que entre las vacas con curva descendente lo hizo el 50% ($p < 0,0001$) (Figura 5.4). En lo que respecta a la retención de placenta, ninguna de las vacas con curva ascendente manifestó esta patología; por el contrario, el 33% de las vacas con curva descendente presentó este problema ($p < 0,0001$) (Figura 5.5).

Según Lizarraga (2021) la suplementación con Se al inicio de un protocolo de IATF tendió a incrementar el porcentaje de preñez e incrementó la actividad de GPx en la sangre en las hembras bovinas. Las vacas suplementadas con Se tuvieron 1,53 veces mayor probabilidad de quedar preñada que las no suplementadas. Estos resultados coinciden con lo reportado por Tasker *et al.* (1987), quienes observaron un aumento en el porcentaje de preñez y un aumento en el estatus de Se en vacas lecheras suplementadas con selenato de bario. En el mismo sentido, en el presente estudio se encontró que la suplementación con Se a través de bolos intraruminales de liberación lenta en vacas lecheras aumenta la actividad de la GPx. Por otro lado, en respuesta a la suplementación con Se en forma de Selenometionina a los medios de cultivo celular en una condición limitante mejoró las expresiones tanto de GPx1 como de GPx4. Esto sugiere que la suplementación con Se podría mantener las actividades antioxidantes en un experimento de cultivo celular con bajo suplemento de suero (Adeniran, *et al.*, 2022).

Aréchiga *et al.* (1994) aumentaron el porcentaje de preñez y redujeron el número de servicios por concepción en vacas lecheras suplementadas con Se y vitamina E. Trabajaron sobre un total de 198 vacas que fueron asignadas aleatoriamente al tratamiento con una sola inyección intramuscular de Se y vitamina E, de 10 ml por animal. En este caso, la incidencia de membranas fetales retenidas fue del 3% para

el grupo tratado y 10,1% para el grupo control. También se logró incrementar el porcentaje de vacas preñadas al primer parto (41,2 vs 25,3%) donde redujo el número de servicio por concepción (2,3 vs 2,8) y redujo el intervalo de parto concepción (121 vs 141).

Spears *et al.* (2008) mostraron que la suplementación con Se puede reducir la incidencia de metritis y quistes ováricos durante el período Pos-P, como también la incidencia de placenta retenida. Estos resultados no coinciden con lo encontrado en el presente trabajo en relación al examen clínico pos parto, en donde no se encontró una relación entre el resultado de dicho examen y los valores de GPx Pos-P.

Según Kathy *et al.*, 2017, al aumentar el contenido de energía junto a la concentración de vitamina E y Se durante el período de transición en vacas mejora la situación antioxidante, aumentando la función de las células inmuno específicas en el período alrededor del parto y mejora de la tasa de concepción con expresión temprana del celo Pos-P. El trabajo se realizó sobre 26 vacas que fueron separadas en 2 grupos, un grupo control y otro grupo tratado. A este último se le suministraron por vía oral 80 IU/kg MS de vitamina E DL, Alfa Tocoferol acetato y 0,3 mg / kg MS de Selenito de Sodio. El resultado reproductivo sobre las vacas tratadas fue acortar 13 días el intervalo parto primer celo, mejorándolo en días sobre las vacas que no fueron tratadas. De la misma manera, la tasa de preñez fue 49,8% mayor en el grupo tratado que en el grupo control. Por el contrario, en el presente trabajo no se encontró una asociación significativa entre la concentración de GPx promedio Pre-P y el IPC en los datos analizados ($p=0,335$) (Figura 5.9).

Según, Sprinkle *et al.* (2021), la suplementación estratégica a través de un bolo de minerales traza de acción prolongada tuvo éxito en la disminución del intervalo entre partos. Las vacas en los grupos de tratamiento recibieron dosis orales de 2 bolos de 100 gramos de Cosecure (Bimeda UK, Anglesey, Gales) que consistían en 0,30 % (p/p) de Selenio como selenato de sodio, 13,4 % (p/p) de cobre A y 0,5 % (p/p) de cobalto. Según la literatura de la empresa validada con bovinos fistulados en rumen en ración de ensilaje y concentrado, los bolos se disolvieron en 175 días y liberaron 156, 5.9 y 3.4 mg/d de Cu, Co y Se, respectivamente. Caso contrario, Gunter *et al.* (2003), observaron que suplementar con Se orgánico (SS o levadura selenizada) no tiene efecto sobre la tasa de concepción y el intervalo de partos en las vacas. En el

mismo sentido, el presente trabajo no encontró una asociación significativa entre la concentración de GPx promedio Pre-P y el IPC en los datos analizados.

En cuanto al segundo eje principal del presente estudio, el aspecto productivo, la eficiencia de producción de las vacas Holstein ha aumentado notablemente en los últimos años y, en la mayoría de los países se han duplicado los niveles de producción, gracias a una combinación de mejoras en la genética, la alimentación y el manejo, sólo buscando el mayor volumen de producción láctea individual (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2008). La producción individual de leche, si bien es la modalidad más difundida, no representa el indicador más acertado para operacionalizar una variable compleja como es la eficiencia productiva. Por lo tanto, la misma debería estar acompañada por otros indicadores que se constituyan en alternativas más integrales para valorar el comportamiento de las vacas lecheras en los sistemas a pastoreo (Marini *et al.*, 2021). La utilización de este tipo de indicadores contribuiría a evitar la sobrevaloración de sólo algunos caracteres involucrados en la identificación del biotipo más adecuado al sistema en donde se desempeña productivamente (Marini *et al.*, 2017).

La selección enfocada sólo por el volumen de leche producida ha sido constante en lechería. Desafortunadamente, hay correlaciones genéticas negativas claras, varias veces más fuertes que las fenotípicas, entre la tasa de producción de leche y la fertilidad, la presencia de mastitis y otras patologías (problemas podales, endometritis, rasgos de la salud en general (Roxström *et al.*, 2001). En consecuencia, de esta exigencia, las vacas se encuentran en situaciones de stress productivo, es decir, esforzando su metabolismo para producir grandes cantidades de leche en situaciones poco favorables. La adecuada suplementación de Se y vitamina E durante el parto podría ser una buena opción para aliviar el estrés oxidativo y las consecuentes consecuencias relacionadas con la salud en el ganado lechero (Xiao *et al.*, 2021).

En cuanto a la variable productiva estudiada se observó que aquellas vacas que tenían una mayor actividad de la GPx fueron las que tuvieron un mejor desempeño productivo, no coincidiendo por lo publicado en un relevamiento de tambos en Canadá por Ceballos- Marquez *et al.* (2012). En este trabajo se observó que el 77% de las vacas de alta producción tuvieron una curva ascendente de la concentración de GPx, mientras que este porcentaje fue significativamente menor entre las vacas de baja y media producción (62%). También se encontró una relación directa y significativa

entre los valores de la producción láctea y la concentración de GPx promedio Pre-P. En el caso de Ceballos-Marquez *et al.* (2012), encontraron que la concentración de Se en la leche de tanque a granel responde rápidamente a los cambios en el consumo de Se, y se ha utilizado satisfactoriamente como una prueba de detección para evaluar la adecuación de Se en vacas lactantes. En los Estados Unidos, las concentraciones medias de Se en la leche en el ganado oscilaron entre 0,09 y 1,11 $\mu\text{mol/L}$. En Canadá, la concentración media de Se en la leche de vaca fue de 0,35 $\mu\text{mol/L}$, con un rango entre 0,23 y 0,34 $\mu\text{mol/L}$ en estudios a nivel de rebaño. Los valores marginales de Se pueden estar relacionados con las bajas concentraciones de Se encontradas en forrajes y cultivos, donde aproximadamente el 90 % de las muestras de forraje contienen $< 0,05$ ppm de Se, que es insuficiente para cumplir el requisito de Se en el ganado bovino. Contrariamente a los resultados en Nueva Zelanda, la producción de leche y la grasa de la leche fueron más altas en los rebaños con Se adecuado (Se en sangre $> 0,15$ $\mu\text{mol/L}$) en comparación con los rebaños con deficiencia de Se; además, la producción de leche en respuesta a la suplementación con Se fue mayor cuando los niveles de Se eran bajos antes de la suplementación (Fraser *et al.*, 1987). Particularmente, en el estudio de Ceballos-Marquez, 2012, el BTSe (nivel de Se en leche de tanque granel) promedio de los rebaños fue mayor en comparación con la concentración de Se en la leche en otros estudios donde se encontró una respuesta positiva a la suplementación con Se, lo que puede explicar la falta de asociación entre BTSe y la producción de leche.

Rodriguez *et al.*, 2002, no encontraron una respuesta en la producción láctea ante la suplementación con bolos de Se, solo hubo un aumento de la concentración de Se en plasma. El experimento se realizó con las vacas del módulo de producción de leche orgánica en pastoreo de la granja experimental de la Universidad Autónoma Chapingo. Se utilizaron 51 vacas (Holstein y Jersey), en diferente estado fisiológico (lactantes y secas), pastoreando praderas mixtas y con libre acceso a agua y a una mezcla mineral sin Se. Los bolos tenían un peso de 13 g con una cantidad de 1,99 y/o 1,06 g de selenito de sodio y yoduro de potasio, respectivamente. Lo mismo sucedió con el trabajo presentado por Insoongnern, H. *et al.* (2021), donde concluyó que la suplementación con Se no tuvo efecto sobre el consumo de alimento, la fermentación

del rumen, la producción de leche o la composición, aunque sí redujo el recuento de células somáticas en la leche.

Según Bayril *et al.* (2015) se ha encontrado que la suplementación con Se y vitamina E aumenta los niveles séricos de Se, la producción de leche y tiene efectos positivos en la salud de la ubre al disminuir los valores de conductividad de la leche y la incidencia de mastitis subclínica. Además, la suplementación con Se y vitamina E disminuyó la incidencia de metritis, el número de días de servicio por concepción y los días abiertos, pero no tuvo efectos sobre la incidencia de RFM. Dicho trabajo fue realizado en el distrito de Turhal de la provincia de Tokat, Turquía, donde se incluyeron un total de 323 vacas lecheras Holstein, cada una de las cuales había parido al menos una vez antes.

Fader *et al.* (2012) realizaron un trabajo en la cuenca lechera de Río Segundo (Provincia de Córdoba), durante tres años consecutivos, con un nivel de producción láctea que se ubicó en un promedio de 9,6 litros de leche/vaca/día. Se utilizaron 80 vacas en ordeño de similares condiciones en producción, edad y clínicamente sanas. Quedó demostrado que en dicha provincia existe carencia de Se, y que la suplementación con dicho mineral generó mejoría en la performance reproductiva y productiva de los rodeos lecheros tratados. La alimentación se desarrolló en condiciones eminentemente pastoriles, donde el recurso forrajero básico estaba constituido por alfalfa, en tanto avena y centeno por un lado y sorgo y maíz por otro, conformaban los verdeos de invierno y verano respectivamente. Además, fueron suplementados con rollos, silo de maíz y grano de sorgo en otoño-invierno. Los grupos que recibieron cobre solo o combinado con Se, tuvieron una mejor respuesta reproductiva en relación al grupo con Se solo, aunque sin ser significativo entre ellos, no obstante, entre los grupos tratados vs. el testigo la diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Los parámetros alcanzados en el grupo tratado significaron una mejora productiva promedio de 40 a 60 días de lactancia, equivalente a más del 10% de producción de leche.

Esta estimación de ganancia, se debería exclusivamente al mejoramiento de los índices reproductivos y, por ende, al incremento en el período de lactancia permitiendo concluir que los tratamientos con cobre y/o Se en zona caracterizada con carencia,

provocó una notoria mejoría en la performance reproductiva y por ende en la producción y productividad del rodeo lechero.

Por último, en el presente trabajo se analizó la posible relación existente entre la concentración de GPx promedio Pre-P y el estado corporal, sin encontrarse resultados significativos ($p=0,584$) (Figura 5.12). Sin embargo, los hallazgos publicados por Zahrazadeh *et al.* (2018) mostraron que la condición corporal (CC), la inyección de Se y vitamina E, es decir su interacción (CC \times Se y vitamina E) influyeron en algunos metabolitos sanguíneos y en el rendimiento de la lactancia en vacas Holstein de alta producción. La interacción CC, Se y vitamina E afectó la glucosa sérica y la insulina. La inyección de Se y vitamina E tuvo efectos más positivos en vacas con CC moderadas, tendiendo a tener mayor actividad de la GPx. Además, las vacas inyectadas con Se y vitamina E tendían a tener una mayor actividad de glutatión peroxidasa en sangre a los 28 días después del parto. Las vacas con alta CC perdieron más CC antes y después del parto, y estas vacas tenían niveles más altos de NEFA en suero, aproximadamente 14 días después del parto. Las vacas con CC alta produjeron más leche que las vacas con CC moderado. Sin embargo, esta condición tuvo un efecto negativo en su oxidación. Las vacas con alta CC tenían una mayor producción de leche que las vacas con moderada CC, y las vacas inyectadas con Se y vitamina E tendían a tener un mayor porcentaje de grasa láctea y una mayor relación de grasa/proteína en comparación con las vacas no suplementadas. Se concluyó que la inyección de Se y vitamina E tuvo efectos beneficiosos sobre algunos metabolitos sanguíneos, la albúmina como parámetro antioxidante de la sangre y el rendimiento de la lactancia en vacas lecheras de alta producción.

7. CONCLUSIONES

Se pudo hallar un valor propio del punto de corte que podría ser considerado como una herramienta complementaria para predecir patologías uterinas, con la finalidad de disminuir principalmente su prevalencia y obtener un tratamiento rápido y efectivo en aquellos animales que la padezcan a futuro.

La suplementación de Se a través de bolos de liberación lenta repercutió de forma positiva sobre la actividad final de la GPx que manifiestan las vacas en el período Pos-P estudiado. Los bajos aportes de Se en las dietas sin suplementación mineral influyen sobre los niveles de la actividad de la GPx principalmente en el Pre-P. Las vacas sin suplementación de Se presentaron niveles menores en la actividad de la GPx que aquellas vacas que si tenían dicha suplementación.

La variación ascendente o descendente de las concentraciones de la GPx con respecto a la aparición de endometritis (clínica y subclínica), así como la frecuencia de retención de placenta presenta una relación beneficiosa, llegando a observarse que ninguna vaca con curva ascendente de la GPx manifestó MFR. Este análisis muestra la relación que hay entre el ascenso del nivel de GPx y la no aparición de endometritis, deduciendo que el aumento de la GPx es factor de protección de endometritis.

En cuanto a la producción láctea, se encontró una relación directa y significativa entre los valores de la producción láctea y la concentración de GPx promedio Pre-P. Las vacas del grupo de alta producción presentaron mayor actividad de la GPx a diferencia del grupo media y baja, que presentaron menor actividad de dicha enzima.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Abuelo, A., Hernández, J., Benedito, J. L., & Castillo, C. (2019). Redox biology in transition periods of dairy cattle: Role in the health of periparturient and neonatal animals. *Antioxidants*, 8(1), 20.
2. Adeniran, S. O., Zheng, P., Feng, R., Adegoke, E. O., Huang, F., Ma, M., & Zhang, G. (2022). The antioxidant role of selenium via GPx1 and GPx4 in LPS-induced oxidative stress in bovine endometrial cells. *Biological Trace Element Research*, 200(3), 1140-1155.
3. Aleri, J. W., Hine, B. C., Pyman, M. F., Mansell, P. D., Wales, W. J., Mallard, B., & Fisher, A. D. (2016). Periparturient immunosuppression and strategies to improve dairy cow health during the periparturient period. *Research in veterinary science*, 108, 8-17.
4. Alloway, B. J. (Ed.). (2012). Heavy metals in soils: trace metals and metalloids in soils and their bioavailability (Vol. 22). Springer Science & Business Media.
5. Andrieu, S. (2008). ¿Hay un papel para los suplementos de oligoelementos orgánicos en la salud de las vacas en transición? *The Veterinary Journal*, 176 (1), 77-83.
6. Arechiga, C. F., Ortiz, O., & Hansen, P. J. (1994). Effect of prepartum injection of vitamin E and selenium on postpartum reproductive function of dairy cattle. *Theriogenology*, 41(6), 1251-1258.
7. Arteel, G. E., & Sies, H. (2001). The biochemistry of selenium and the glutathione system. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10(4), 153-158.
8. Barceloux, D. G., & Barceloux, D. (1999). Selenium. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 37(2), 145-172.
9. Barquinero, J. (1992). Los radicales libres: una amenaza para la salud. *CRYSTAL, RG y JR RAMON*.
10. Bayril, T., Yildiz, A. S., Akdemir, F. A. T. İ. H., Yalcin, C., Köse, M., & Yilmaz, O. (2015). The technical and financial effects of parenteral supplementation with selenium and vitamin E during late pregnancy and the early lactation period on the productivity of dairy cattle. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 28(8), 1133.

11. Behne, D., & Kyriakopoulos, A. (2001). Mammalian selenium-containing proteins. *Annual review of nutrition*, 21(1), 453-473.
12. Bianchini, G., Di Masso, R. J., Rinaudo, A., & Marini, P. R. (2020). Actividad glutatión peroxidasa en vacas lecheras sin suplementar y suplementadas con selenio. *Revista veterinaria*, 31(1), 28-32.
13. Bianchini, G., Rinaudo, A., Marini P.R. (2022). Cut-off point of Glutathione peroxidase (GSH-PX) for the diagnosis of endometritis in dairy cows. *African Journal of Agriculture and Food Science (AB Journals)*. Article ID: AJAFS_E7MYHIXC. Volume 5, Issue 3, 2022.
14. Boudjellaba, S., Ainouz, L., Tennah, S., Temim, S., & Iguer-Ouada, M. (2018). Reproduction performance and blood biochemical parameters in dairy cows: Relationship with oxidative stress status. *Veterinary world*, 11(6), 883.
15. Brambilla, E., Micheloud, J.F., Fernández, E., Cseh, S., Drake, M., Poo, J.I. (2016). Deficiencia primaria de Se en bovinos en la provincia de Salta. *Revista Argentina de Producción Animal*. 36 (1): 33-70.
16. Casas, R. R. (2002). La Conservación de los suelos y la sustentabilidad de los Sistemas Agropecuarios (Doctoral dissertation, Disertación. Disponible en: http://www.insuelos.org.ar/institucional/disertacion_R_Casas.htm. Último acceso: Septiembre de 2002).
17. Ceballos-Márquez, A., Barkema, H. W., Stryhn, H., Dohoo, I. R., Keefe, G. P., & Wichtel, J. J. (2012). Bulk tank milk selenium and its association with milk production parameters in Canadian dairy herds. *The Canadian Veterinary Journal*, 53(1), 51.
18. Ceballos, A., Wittwer, F., Contreras, P. A., & Böhmwald, H. (1998). Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa en rebaños lecheros a pastoreo: variación según edad y época del año. *Archivos de medicina veterinaria*, 30(1), 13-22.
19. Combs, G. F. (2001). Selenium in global food systems. *British journal of nutrition*, 85(5), 517-547.
20. Combs Jr, G. F., & Combs, S. B. (1986). *The role of selenium in nutrition*. Academic Press, Inc.

21. Combs Jr, G. F., Noguchi, T., & Scott, M. 1. (1975). Mechanisms of action of selenium and vitamin E in protection of biological membranes. In *Federation proceedings* (Vol. 34, No. 11, pp. 2090-2095).
22. Colitti, M., Stefanon, B., Gabai, G., Gelain, M. E., & Bonsembiante, F. (2019). Oxidative stress and nutraceuticals in the modulation of the immune function: current knowledge in animals of veterinary interest. *Antioxidants*, 8(1), 28.
23. Coppo J.A., Coppo N.B., Koza G.A., & Slanac A.L. (1999). Indicadores nutricionales en la hacienda de áreas inundadas de las provincias de Corrientes, Chaco y Formosa. *Actas Cien & Técn UNNE (Argentina)* 4: 117-120.
24. Cseh, S. B., Drake, M. L., & Brambilla, E. C. (2013). Deficiencia de selenio en bovinos según la época del año y la región en Argentina. In *Congreso Argentino de Producción Animal. 36. 2013 10 01-03, 1 al 3 de octubre de 2013. Corrientes. AR.*
25. DeJarnette, J. M., Sattler, C. G., Marshall, C. E., & Nebel, R. L. (2007). Voluntary waiting period management practices in dairy herds participating in a progeny test program. *Journal of Dairy Science*, 90(2), 1073-1079.
26. Edmonson, A. J., Lean, I. J., Weaver, L. D., Farver, T., & Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of dairy science*, 72(1), 68-78.
27. Eicher, S. D., Morrill, J. L., & Blecha, F. (1994). Vitamin concentration and function of leukocytes from dairy calves supplemented with vitamin A, vitamin E, and β -carotene in vitro. *Journal of dairy science*, 77(2), 560-565.
28. Eicken, K., Scholz, H., & Stockhofe-Zurwieden, N. (1992). Mangelhafte selen und vitamin-E versorgung als ursache für bestandsweise auftretende peritarsitiden beim Rind. *Tierärztl Umschau*, 47, 843-847.
29. Esposito, G., Irons, P. C., Webb, E. C., & Chapwanya, A. (2014). Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal reproduction science*, 144(3-4), 60-71.
30. Fader, O.W., & Marro, O. (2012). Efecto de la administración de cobre y selenio inyectable sobre el comportamiento reproductivo de bovinos lecheros

- deficientes en la región central de Córdoba. Artículo de Divulgación. Instituto Nacional Tecnología Agropecuaria (INTA Manfredi).
31. Fonseca, F. A., Britt, J. H., McDaniel, B. T., Wilk, J. C., & Rakes, A. H. (1983). Reproductive traits of Holsteins and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. *Journal of Dairy Science*, 66(5), 1128-1147.
 32. Franke, K. W. (1934). A new toxicant occurring naturally in certain samples of plant foodstuffs. 1. Results obtained in preliminary feeding trials. *Journal of Nutrition*, 8, 597-608.
 33. Fraser, A. J., Ryan, T. J., Sproule, R., Clark, R. G., Anderson, D., & Pederson, E. O. (1987). The effect of selenium supplementation on milk production in dairy cattle. *Proc n Z Soc Anim Prod*, 47, 61-64.
 34. Galbraith, M. L., Vorachek, W. R., Estill, C. T., Whanger, P. D., Bobe, G., Davis, T. Z., & Hall, J. A. (2016). Rumen microorganisms decrease bioavailability of inorganic selenium supplements. *Biological trace element research*, 171, 338-343.
 35. Ganther, H. E., Hafeman, D. G., Lawrence, R. A., Serfass, R. E., & Hoekstra, W. G. (1976). Selenium and glutathione peroxidase in health and disease—a review. *Essential and Toxic Element*, 165-234.
 36. Gayosso M., & Mayela, L. (2007). Evaluación de dos concentraciones de selenio en bolos intraruminales sobre selenio sanguíneo y fecal de vacas lecheras Suizo x Cebú en pastoreo en el sureste mexicano. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México.
 37. Gerloff, B. J. (1992). Effect of selenium supplementation on dairy cattle. *Journal of animal science*, 70(12), 3934-3940.
 38. Gilbert, R. O., Gröhn, Y. T., Guard, C. L., Surman, V., Neilsen, N., & Slauson, D. O. (1993). Impaired post partum neutrophil function in cows which retain fetal membranes. *Research in veterinary science*, 55(1), 15-19.
 39. Goff, J. P. (2018). Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet

- considerations to improve mineral status. *Journal of dairy science*, 101(4), 2763-2813.
40. Gong, J., & Xiao, M. (2018). Effect of organic selenium supplementation on selenium status, oxidative stress, and antioxidant status in selenium-adequate dairy cows during the periparturient period. *Biological trace element research*, 186, 430-440.
 41. Guillén Poza, P. A. (2014). "Binge drinking" y suplementos de selenio: Efectos sobre la actividad y expresión de la glutatión peroxidasa.
 42. Gunter, S. A., Beck, P. A., & Phillips, J. M. (2003). Effects of supplementary selenium source on the performance and blood measurements in beef cows and their calves. *Journal of Animal Science*, 81(4), 856-864.
 43. Hall, J. A., Bobe, G., Vorachek, W. R., Kasper, K., Traber, M. G., Mosher, W. D., & Gamroth, M. (2014). Effect of supranutritional organic selenium supplementation on postpartum blood micronutrients, antioxidants, metabolites, and inflammation biomarkers in selenium-replete dairy cows. *Biological Trace Element Research*, 161, 272-287.
 44. Halliwell, B. (1992). Free radicals, antioxidants and human disease: What do we know? *J Lab Clin Med*, 119, 598-620.
 45. Hemingway, R. G. (2003). The influences of dietary intakes and supplementation with selenium and vitamin E on reproduction diseases and reproductive efficiency in cattle and sheep. *Veterinary research communications*, 27, 159-174.
 46. Hein, N. E., Hein, W. I. H., & Quaino, O. R. (1989). Características de los complejos de suelos de la parte central de Santa Fe. *Ciencia del Suelo*, 7(1-2), 97-102.
 47. Holben, D. H., & Smith, A. M. (1999). The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, 99(7), 836-843.
 48. Hosnedlova, B., Kepinska, M., Skalickova, S., Fernandez, C., Ruttkay-Nedecky, B., Malevu, T. D., & Kizek, R. (2017). A summary of new findings on the biological effects of selenium in selected animal species—a critical review. *International journal of molecular sciences*, 18(10), 2209.

49. Insoongnern, H., Srakaew, W., Prapaiwong, T., Suphrap, N., Potirahong, S., & Wachirapakorn, C. (2021). Effect of mineral salt blocks containing sodium bicarbonate or selenium on ruminal pH, rumen fermentation and milk production and composition in crossbred dairy cows. *Veterinary Sciences*, 8(12), 322.
50. Intagri, S. C. (2018). Disponibilidad de Nutrientos y el pH del Suelo. *Serie Nutrición Vegetal*, (113).
51. Islam, R., Kumar, H., Singh, G., Krishnan, B. B., & Dey, S. (2017). Depressed polymorphonuclear cell functions in periparturient cows that develop postpartum reproductive diseases. *Veterinary Research Communications*, 41, 201-209.
52. Jones, G. D., Droz, B., Greve, P., Gottschalk, P., Poffet, D., McGrath, S. P. & Winkel, L. H. (2017). Selenium deficiency risk predicted to increase under future climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(11), 2848-2853.
53. Julien, W. E., Conrad, H. R., Jones, J. E., & Moxon, A. L. (1976). Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 59(11), 1954-1959.
54. Juniper, D. T., Rymer, C., & Briens, M. (2019). Bioefficacy of hydroxy-selenomethionine as a selenium supplement in pregnant dairy heifers and on the selenium status of their calves. *Journal of dairy science*, 102(8), 7000-7010.
55. Kankofer, M. (2000). Antioxidative defence mechanisms in bovine placenta and their importance for placental release. *Reproduction in Domestic Animals*, 35(5), 229-233.
56. Khalili, M., Chamani, M., Amanlou, H., Nikkhah, A., Sadeghi, A. A., Dehkordi, F. K., & Shirani, V. (2019). The effect of feeding inorganic and organic selenium sources on the hematological blood parameters, reproduction and health of dairy cows in the transition period. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 42.
57. Lazzarini, B., Baudracco, J., Demarchi, E., Lovino, D., & Jáuregui, J. M. (2014). Evolución de la suplementación, el consumo de pastura y la producción de leche en sistemas lecheros de Argentina. *Fave. Sección ciencias agrarias*, 13(2), 0-0.

58. LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Bateman, K. G., TenHag, J., Walton, J. S., & Johnson, W. H. (2002). The effect of prepartum injection of vitamin E on health in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85(6), 1416-1426.
59. Lizarraga, R. M. (2021). *Consecuencias productivas y reproductivas de la deficiencia de selenio en bovinos* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).
60. López Alonso, M., Miranda, M., Hernández, J., Castillo, C., & Benedito, J. L. (1997). Glutathión peroxidasa (GSH-Px) en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en rumiantes. *Archivos de medicina veterinaria*, 29(2), 171-180.
61. MacPherson, A. (1994). Selenium, vitamin E and biological oxidation. *Selenium, vitamin E and biological oxidation.*, 3-30.
62. Maddipati, K. R., & Marnett, L. J. (1987). Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. Purification and properties of a selenium-dependent glutathione peroxidase. *Journal of Biological Chemistry*, 262(36), 17398-17403.
63. Mainville, A. M., Odongo, N. E., Bettger, W. J., McBride, B. W., & Osborne, V. R. (2009). Selenium uptake by ruminal microorganisms from organic and inorganic sources in dairy cows. *Canadian journal of animal science*, 89(1), 105-110.
64. Malbe, M., Klaassen, M., Fang, W., Myllys, V., Vikerpuur, M., Nyholm, K., & Sandholm, M. (1995). Comparisons of selenite and selenium yeast feed supplements on Se-incorporation, mastitis and leucocyte function in Se-deficient dairy cows. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 42(1-10), 111-121.
65. Mancuso, W., & Teran, J. C. (2008). El sector lácteo argentino. *XXI Curso internacional de lechería para profesionales de America Latina*, 13-26.
66. Marini, P.R, Biga, P. & Di-Masso, R.J (2021). Una caracterización multivariante de la eficiencia productiva-reproductiva y la edad al primer parto en vacas Holstein. *Agronomía Mesoamericana*, 32 (1), 34-44.

67. Marini, P. R., Castro, R., Frana, E., & Di Masso, R. J. (2017). Multivariate characterization of biological efficiency in dairy cows in grazing systems. *Sustainable Agriculture Research*, 6(526-2017-2696).
68. Martínez, F. F. (2002). Soja en la región pampeana. *Idia XXI. Buenos Aires-Argentina*, 2(3), 29-32.
69. Mavangira, V. & Sordillo, LM (2018). Papel de los mediadores lipídicos en la regulación del estrés oxidativo y las respuestas inflamatorias en el ganado lechero. *Investigación en ciencia veterinaria*, 116, 4-14.
70. McDowell, L. R. (2000). *Vitamins in animal and human nutrition*. John Wiley & Sons.
71. Mehdi, Y., & Dufrasne, I. (2016). Selenium in cattle: a review. *Molecules*, 21(4), 545.
72. Mikulková, K., Kadek, R., Filípek, J., & Illek, J. (2020). Evaluation of oxidant/antioxidant status, metabolic profile and milk production in cows with metritis. *Irish Veterinary Journal*, 73(1), 1-11.
73. Miller, J. K., Brzezinska-Slebodzinska, E., & Madsen, F. C. (1993). Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *Journal of dairy science*, 76(9), 2812-2823.
74. Mordak, R. y Stewart, PA (2015). Estrés periparto e inmunosupresión como causa potencial de retención de placenta en vacas lecheras altamente productivas: ejemplos de prevención. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57 (1), 84.
75. Moreda-Pineiro, J., Moreda-Pineiro, A., & Bermejo-Barrera, P. (2017). In vivo and in vitro testing for selenium and selenium compounds bioavailability assessment in foodstuff. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(4), 805-833.
76. Muth, OH, Oldfield, JE, Remmert, LF y Schubert, JR (1958). Efectos del selenio y la vitamina E en la enfermedad del músculo blanco. *Ciencia*, 128 (3331), 1090-1090.
77. Nockels, C. F. (1996). Antioxidants improve cattle immunity following stress. *Animal Feed Science and Technology*, 62(1), 59-68.
78. National Research Council. N.R.C. (1983). Selenium in Nutrition. Revised Edition.

79. National Research Council. N.R.C. (1989). Nutrient requirements of dairy cattle.
80. National Research Council. N.R.C (1996). Nutrient requirements of dairy cattle, 7th
81. National Research Council. (2001). *Nutrient requirements of dairy cattle: 2001*. National Academies Press.
82. Paez, J. O. J., Bravo, M. H., Arellano, R. L., Flores, A. R., & Patiño, G. R. (2020). Bolos intrarruminales para suplementar minerales traza en rumiantes. Revisión. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 24(1), 35-46.
83. Painter, E. P. (1941). The chemistry and toxicity of selenium compounds, with special reference to the selenium problem. *Chemical Reviews*, 28(2), 179-213.
84. Pappa, E. C., Pappas, A. C., & Surai, P. F. (2006). Selenium content in selected foods from the Greek market and estimation of the daily intake. *Science of the Total Environment*, 372(1), 100-108.
85. Peter, DW, Whanger, PD, Lindsay, JR y Buscall, DJ (1982). Excreción de selenio, zinc y cobre por ovejas que reciben infusiones intrarruminales continuas de selenito o selenometionina.
86. Putman, AK, Brown, JL, Gandy, JC, Wisnieski, L. y Sordillo, LM (2018). Cambios en biomarcadores del metabolismo de nutrientes, inflamación y estrés oxidativo en vacas lecheras durante la transición al período seco temprano. *Revista de ciencia láctea*, 101 (10), 9350-9359.
87. Radostits, O. M., & Gay, C. C. Hinchcliff, KW. Constable, PD. (2007). *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats, 10th ed. Elsevier Health Sciences, Philadelphia, PA, USA, and pp*, 1498-1506.
88. Raisbeck, MF (2000). Selenosis. *Clínicas veterinarias de América del Norte: práctica de alimentos para animales*, 16 (3), 465-480.
89. Revilla-Vázquez, A., Ramírez-Bribiesca, E., López-Arellano, R., Hernández-Calva, L. M., Tórtora-Pérez, J., García-García, E., & Cruz Monterrosa, R. G. (2008). Suplemento de selenio con bolos intrarruminales de selenito de sodio en ovinos. *Agrociencia*, 42(6), 629-635.

90. Rinaudo, A. (2012). Endometritis subclínica en vacas lecheras: diagnóstico, tratamiento e incidencia productiva y reproductiva. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Rosario.
91. Rodríguez, O. E. D. R., González, E. A., Muñiz, J. G. G., Arellano, R. L., Bravo, M. H., & Meneses, J. A. C. (2002). Uso de bolos para suplementar selenio a vacas lecheras. Universidad Nacional de México (UNAM).
92. Rodríguez, A. M., Romero, R. A., Odriozola, E. R., García, J. A., Morrell, E. L., Brambilla, E. C., & Cantón, G. J. (2016). ENFERMEDAD DEL MÚSCULO BLANCO EN TERNEROS PARA CRÍA EN PROVINCIA DE BUENOS AIRES.
93. Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G., & Hoekstra, W. (1973). Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179(4073), 588-590.
94. Ruiz Juárez, L. A., Aréchiga Flores, C. F., Morales Roura, S., Ortiz González, O., Gutiérrez, C. G., & Hernández Cerón, J. (2009). Incidencia de patologías uterinas y fertilidad de vacas Holstein tratadas con selenio y vitamina E antes y después del parto. *Veterinaria México*, 40(2), 133-140.
95. Ruksan, B.R., Zanelli, M.L. (1992). La glutathione peroxidase en la detección de la deficiencia de selenio en bovinos de la Argentina. XIII Congress, Panamericano de Ciencias Vet. Santiago, Chile, 5-9 Oct (in Spanish), 3 pp.
96. Runciman, DJ, Anderson, GA y Malmo, J. (2009). Comparación de dos métodos de detección de flujo vaginal purulento en vacas lecheras posparto y el efecto de la cefapirina intrauterina en el rendimiento reproductivo. *Diario veterinario australiano*, 87 (9), 369-378.
97. Rutigliano, H. M., Lima, F. S., Cerri, R. L., Greco, L. F., Vilela, J. M., Magalhães, V., & Santos, J. E. (2008). Effects of method of presynchronization and source of selenium on uterine health and reproduction in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91(9), 3323-3336.
98. Schwarz, K., & Foltz, C. M. (1957). Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *Journal of the American Chemical Society*, 79(12), 3292-3293.
99. Silva, J. H., Quiroga, M. A., & Auza, N. J. (2000). Selenio en el rumiante. Relaciones suelo, planta, animal. *Medicina Veterinaria*, 17(10), 2.

100. Sordillo, LM (2016). Estrategias nutricionales para optimizar la inmunidad del ganado lechero. *Revista de ciencia láctea*, 99 (6), 4967-4982.
101. Spears, J. W., & Weiss, W. P. (2008). Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176(1), 70-76.
102. Sprinkle, J. E., Schafer, D. W., Cuneo, S. P., Tolleson, D. R., & Enns, R. M. (2021). Effects of a long-acting trace mineral rumen bolus upon range cow productivity. *Translational Animal Science*, 5(1), txaa232.
103. Sun, L. L., Gao, S. T., Wang, K., Xu, J. C., Sanz-Fernandez, M. V., Baumgard, L. H., & Bu, D. P. (2019). Effects of source on bioavailability of selenium, antioxidant status, and performance in lactating dairy cows during oxidative stress-inducing conditions. *Journal of dairy science*, 102(1), 311-319.
104. Surai, PF (2006). *Selenio en nutrición y salud* (Vol. 974). Nottingham: Prensa universitaria de Nottingham.
105. Surai, P. F., & Fisinin, V. I. (2016). Selenium in livestock and other domestic animals. *Selenium: its molecular biology and role in human health*, 595-606.
106. Surai, P. F., Kochish, I. I., Fisinin, V. I., & Juniper, D. T. (2019). Revisiting oxidative stress and the use of organic selenium in dairy cow nutrition. *Animals*, 9(7), 462.
107. Tasker, J. B., Bewick, T. D., Clark, R. G., & Fraser, A. J. (1987). Selenium response in dairy cattle. *New Zealand Vet J*; 35:139-140.
108. Ullrey, D. E. (1992). Basis for regulation of selenium supplements in animal diets. *Journal of animal science*, 70(12), 3922-3927.
109. Underwood, E. J. (1971). *Trace elements in human and animal nutrition*. Ed. 3. New York, USA, Academic Press, Inc.
110. Underwood, E. J., & Suttle, N. F. (1999). *The mineral nutrition of livestock* 3rd edition.
111. Van Metre, D. C., & Callan, R. J. (2001). Selenium and vitamin E. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 17(2), 373-402.
112. Van Saun, R. J. (1990). Rational approach to selenium supplementation essential. *Feedstuffs*, 62(3), 15-17.

113. Villar, D., Arthur, J. R., Gonzalez, J. M., Pallares, F. J., & Carson, T. L. (2002). Selenium status in cattle: Interpretation of laboratory results. *The Bovine Practitioner*, 73-80.
114. Wang, C., Liu, Q., Yang, W.Z., Dong, Q., Yang, X.M., He, D.C., Zhang, P., Dong, K.H., Huang, Y.X. (2009). Effects of selenium yeast on rumen fermentation, lactation performance and feed digestibilities in lactating dairy cows. *Livest. Sci.*, 126, 239–244.
115. Weiss, W. (2021). Brief Introduction to the NASEM (formerly known as NRC) 8th Revised Edition of the Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Cornell University Library.
116. Weiss, W. (2005). Selenium sources for dairy cattle. Proceedings Tri state dairy nutrition conference, Fort Wayne, USA, Pp 61-71.
117. Whanger P. D. (2002). Selenoprotein W. *Methods in enzymology*, 347, 179–187. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(02\)47016-4](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(02)47016-4)
118. Wheatley, L.E., Beck, F.G. (1988). The influence of season and husbandry on the selenium status of sheep in a deficient area, *Br. Vet. J.* 144: 246-251.
119. Wright, P.L., Bell, M.C. (1966). Metabolismo comparativo del selenio y el telurio en ovejas y cerdos. *A.m. J. Physiol.* 1966, 211, 6-10.
120. Xiao, Jianxin, Muhammad Zahoor Khan, Yulin Ma, Gibson Maswayi Alugongo, Jiaying Ma, Tianyu Chen, Adnan Khan y Zhijun Cao. 2021. "Las propiedades antioxidantes del selenio y la vitamina E; su papel en la regulación de la salud del ganadolecheroperiparto" *Antioxidantes* 10, N°:10:1555.
121. Zahrazadeh, M., Riasi, A., Farhangfar, H., & Mahyari, S. A. (2018). Effects of close-up body condition score and selenium-vitamin E injection on lactation performance, blood metabolites, and oxidative status in high-producing dairy cows. *Journal of dairy science*, 101(11), 10495–10504.

9. ANEXO

Tabla A.1. Diferentes selenoproteínas y sus características

| Selenoproteínas | Abreviatura | Distribución celular/tejido/especie | Función |
|--|--------------------|--|--|
| Glutación peroxidasa citosólica | GPx1 | Citosol, glóbulo rojo | Protección antioxidante |
| Glutación peroxidasa Plasmática | GPx2 | Espacio extracelular y plasma, riñones, Pulmones | Mantenimiento del estado <i>redox</i> celular |
| Glutación peroxidasa hidroperóxido Fosfolipídica | GPx3 | Membrana celular y otros tejidos | Detoxificación de hidroperóxidos lipídicos |
| Glutación peroxidasa Intestinal | GPx4 | Tracto gastrointestinal | Protección antioxidante |
| Glutación peroxidasa epididimal | GPx5 | Expresión restringida al epidídimo (donde maduran los espermatozoides) | Protección antioxidante durante espermogénesis y maduración Espermática |
| Glutación peroxidasa olfativa | GPx6 | Epitelio olfatorio, tejidos embrionarios | Protección antioxidante |
| Glutación peroxidasa fosfolipídicasin contenido de Se-Cis | GPx7 | Muchos tejidos | Desconocido, posible rol aliviando estrés oxidativo en cáncer de mama |

Tabla A.1. Diferentes selenoproteínas y sus características (*continuación*)

| Selenoproteínas | Abreviatura | Distribución celular/tejido/especie | Función |
|---|--------------------|--|---|
| Tiorredoxín reductasa tipo I | TRx1 | Citosol, riñones, hígado, corazón | Parte del sistema tiroideo. Defensa antioxidante, regulación <i>redox</i> y señalización celular. |
| Tiorredoxín reductasa tipo II | TRx2 | Mitocondria, hígado y riñones | Parte del sistema tiroideo. Defensa antioxidante, regulación <i>redox</i> y señalización celular. |
| Tiorredoxín reductasa tipo III | TRx3 | Testículos | Parte del sistema tiroideo. Defensa antioxidante, regulación <i>redox</i> y señalización celular. |
| Deiodinasa iodotironina tipo I | DI1 | Muchos tejidos como hígado, riñones y tiroides | Conversión tiroxina (T4) a triiodotironina (T3) y reversa |
| Deiodinasa iodotironina tipo II | DI2 | Hígado, riñones, tiroides, tejido adiposo | Conversión T4 a T3 |
| Deiodinasa iodotironina tipo III | DI3 | Placenta, cerebro, piel | Conversión T3 a T4 |
| Selenofosfato-Sintetasa | Se-PSin | Testículos, muchos otros Tejidos | Síntesis de seleno-Fosfato |
| Selenoproteína de 15 kDa | Se-P15 | Retículo endoplasmático, células T | Rol en apoptosis celular y mediación de efectos quimio protectores del Se |

Tabla A.1. Diferentes selenoproteínas y sus características *(continuación)*

| Selenoproteínas | Abreviatura | Distribución celular/tejido/especie | Función |
|-------------------------|--------------------|--|---|
| Selenoproteína K | Se-PK | Cardiomiocitos | Posible acción Antioxidante |
| Selenoproteína M | Se-PM | Cerebro y otros tejidos | Lejanamente relacionada a Se- P15. Puede estar involucrada en la etiología del cáncer |
| Selenoproteína N | Se-PN | Retículo endoplasmático | Vinculada con el síndrome de la columna rígida |
| Selenoproteína O | Se-PO | Amplia distribución | Desconocido |
| Selenoproteína P | Se-PP | Plasma | Vinculada al transporte de Se y defensa Antioxidante |
| Selenoproteína R | Se-PR | Citosol, núcleos | Reducción de metionina oxidada, residuo de proteínas dañadas |
| Selenoproteína K | Se-PK | Cardiomiocitos | Posible acción Antioxidante |
| Selenoproteína M | Se-PM | Cerebro y otros tejidos | Lejanamente relacionada a Se- P15. Puede estar involucrada en la etiología del cáncer |

Tabla A.1. Diferentes selenoproteínas y sus características (*continuación*)

| Selenoproteínas | Abreviatura | Distribución celular/tejido/especie | Función |
|-------------------------|--------------------|--|--|
| Selenoproteína N | Se-PN | Retículo endoplasmático | Vinculada con el síndrome de la columna rígida |
| Selenoproteína O | Se-PO | Amplia distribución | Desconocido |
| Selenoproteína P | Se-PP | Plasma | Vinculada al transporte de Se y defensa antioxidante |
| Selenoproteína R | Se-PR | Citosol, núcleos | Reducción de metionina oxidada, residuo de proteínas dañadas |
| Selenoproteína S | Se-PS | Retículo endoplasmático | Balance <i>redox</i> celular. Posible influencia en respuesta inflamatoria |
| Selenoproteína T | Se-PT | Ubicuo | Rol en regulación de homeostasis cálcica y secreción neuroendocrina |
| Selenoproteína V | Se-PV | Testículos | Posible rol en regulación <i>redox</i> |
| Selenoproteína W | Se-PW | Corazón y músculos Esqueléticos | Protección antioxidante |