

ACTIVIDAD DE GSX-Px, CONCENTRACIÓN DE SELENIO Y CALIDAD DEL EYACULADO EN SEMENTALES OVINOS SUPLEMENTADOS CON SELENIO DURANTE LA ÉPOCA REPRODUCTIVA

GSX-Px ACTIVITY, SELENIUM CONCENTRATION AND SEMEN QUALITY ON RAMS SUPPLEMENTED WITH SELENIUM DURING REPRODUCTION ESTAGE

Oscar Carrillo-Nieto¹, Ignacio A. Domínguez-Vara^{1*}, Maximino Huerta-Bravo², Gerardo Jaramillo-Escutia¹, Soledad Díaz-Zarco¹, José Fernando Vázquez-Armijo³, Nazario Pescador-Salas¹, Alma Revilla-Vázquez⁴

¹Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. (igy92@hotmail.com). ²Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo, Estado de México. ³Centro Universitario UAEM Temascaltepec, Universidad Autónoma del Estado de México. ⁴División de Químico Biológicas. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Universidad Nacional Autónoma de México.

RESUMEN

En México se han diagnosticado deficiencias de minerales traza en ovinos en pastoreo, pero hay pocas estrategias para corregirlas y evaluar su respuesta. El objetivo de este estudio fue evaluar, en sementales ovinos (10 Hampshire con PV 80.6 ± 7.6 kg y 8 Suffolk con PV 86.3 ± 9.3 kg), el efecto de un suplemento de selenito de sodio en un bolo intraruminal de liberación prolongada (500 mg de Se), sobre el PV, condición corporal, circunferencia escrotal, variables hemáticas, actividad de glutatión peroxidasa, concentración de selenio en suero sanguíneo y características del eyaculado. El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial $2 \times 2 \times 3$ sin y con Se (bolo intraruminal), razas (Hampshire y Suffolk) y tres meses en la época reproductiva (noviembre, diciembre y enero), donde cada semental fue la unidad experimental. Las muestras de sangre se obtuvieron en las semanas uno (previo al tratamiento), dos y tres de julio de 2005, y después, en la cuarta semana de cada mes (de agosto de 2005 a febrero de 2006). De noviembre a enero, mediante vagina artificial, cada semana se extrajo el eyaculado de los sementales. Cada día (08:00 h), previo al pastoreo, los sementales comieron un alimento concentrado (1 % PV) y pastaron durante el día praderas de *Pennisetum clandestinum*, mientras que por la noche estuvieron en confinamiento. El Se suministrado aumentó ($p \leq 0.05$) la actividad de GSH-Px, la movilidad y número de los espermatozoides vivos y normales. La calidad del eyaculado fue mayor ($p \leq 0.05$) en volumen, densidad, concentración y viabilidad para sementales Suffolk.

ABSTRACT

There are diagnosed trace minerals deficiencies in grazing sheep in Mexico, but few strategies to correct and evaluate their response are available. Our objective in this study was to evaluate, in rams (10 Hampshire 80.6 ± 7.6 kg LW and eight Suffolk 86.3 ± 9.3 kg LW), the effect of a sodium selenite supplement in an extended-release intraruminal bolus (500 mg of Se), on the LW, body condition, scrotal circumference, blood variables, glutathione peroxidase activity, selenium concentration in blood serum and characteristics of the ejaculate. The experimental design was completely randomized with a $2 \times 2 \times 3$ factorial arrangement without and with Se (intraruminal bolus), breeds (Hampshire and Suffolk) and three months during the breeding season (November, December and January), where each ram was the experimental unit. Blood samples were obtained in weeks one (before treatment), two and three in July 2005, and then, in the fourth week of each month (August 2005 to February 2006). The ejaculate of the rams were sampled every week from November to January, using an artificial vagina. Every day (08:00 h), before grazing, the rams received a concentrated feed (1 % PV), grazed on *Pennisetum clandestinum* pastures during the day, and were confined at night. The supplied Se increased ($p \leq 0.05$) GSH-Px activity, mobility and number of live and normal sperm. The ejaculate quality was higher ($p \leq 0.05$) in volume, density, concentration and viability on the Suffolk rams. In conclusion, a Se supplement in intraruminal boluses increased GSH-Px activity, mobility and viability of the ejaculate in Hampshire and Suffolk rams during their breeding season.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: marzo, 2017. Aprobado: enero, 2018.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 52: 827-839. 2018.

En conclusión, un suplemento de Se en bolos intraruminales aumenta la actividad de GSH-Px, la movilidad y viabilidad del eyaculado de sementales Hampshire y Suffolk en la época reproductiva.

Palabras clave: carneros, selenito de sodio, bolo intraruminal, semen, glutatión peroxidasa.

INTRODUCCIÓN

El selenio (Se) es un elemento mineral traza con actividad antioxidante que, en conjunto con la vitamina E, realiza funciones esenciales para prevenir daños celulares (Mahmoud *et al.*, 2013). Por lo tanto, ambos son parte del sistema antioxidante del organismo contra el estrés oxidativo, el cual es una condición del resultado del desequilibrio entre las especies de oxígeno reactivo (radicales libres y los antioxidantes en el cuerpo, que puede conducir a daños en los espermatozoides, deformidades y, finalmente, infertilidad masculina (Bansal y Bilaspuri, 2011; Agarwal *et al.*, 2014). La función principal del Se en el organismo es como componente de varias enzimas selenoproteínas (Silva *et al.*, 2000). La enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px) contiene Se en su estructura química y una de sus funciones es evitar la formación de radicales libres, previniendo así el daño por oxidación tisular (Holben y Smith, 1999). Hay una selenoproteína con funciones protectoras relevantes en la cápsula mitocondrial del espermatozoide (Ahsan *et al.*, 2014); en sementales ovinos, el Se y la vitamina E mejoran la calidad del semen, asociado a una mayor concentración de testosterona y mayor actividad de la enzima GSH-Px en suero sanguíneo (Mahmoud *et al.*, 2013). En sementales caprinos, el Se orgánico, mejora el estado antioxidativo y los niveles de testosterona y T_3 en plasma seminal y suero sanguíneo, lo cual confiere mayor protección a los espermatozoides contra el daño oxidativo, aspecto importante en la producción de semen de buena calidad (Kumar *et al.*, 2013). En búfalos, el Se orgánico e inorgánico mejoró la calidad del semen y aumentó el contenido de testosterona y Se en suero sanguíneo (El-Sharawy *et al.*, 2017). El espermatozoide del verraco con deficiencia de Se tiene capacidad fecundante baja debido a su movilidad limitada asociada con desarrollo anormal de su flagelo (Ahsan *et al.*, 2014). En cabras lecheras, la deficiencia de Se y vitamina E reduce la respuesta inmune y compromete la salud y comportamiento productivo de la hembra y sus crías

Key words: rams, sodium selenite, intraruminal bolus, semen, glutathione peroxidase.

INTRODUCTION

Selenium (Se) is a trace mineral element with antioxidant activity that together with vitamin E performs essential functions to prevent cellular damage (Mahmoud *et al.*, 2013). Therefore, both are part of the body's antioxidant system against oxidative stress, which is a condition due to imbalance between reactive oxygen species (free radicals and antioxidants in the body, which can lead to sperm damage, deformities and male infertility (Bansal and Bilaspuri, 2011; Agarwal *et al.*, 2014). The main function of Se in the organism is as a component of several selenoprotein enzymes (Silva *et al.*, 2000). The enzyme glutathione peroxidase (GSH-Px) contains Se in its chemical structure, and one of its functions is to prevent free radicals formation, thus preventing damage by tissue oxidation (Holben and Smith, 1999). There is a selenoprotein with relevant protective functions in the mitochondrial capsule of the sperms (Ahsan *et al.*, 2014). In rams, Se and vitamin E improved semen quality, associated with a higher testosterone concentration and increased activity of the GSH-Px enzyme in blood serum (Mahmoud *et al.*, 2013). In male goats, organic Se improved the antioxidant status, testosterone and T_3 levels in seminal plasma and blood serum, which gives greater protection to sperms against oxidative damage, an important aspect for production of good quality semen (Kumar *et al.*, 2013). In buffaloes, organic and inorganic Se improved semen quality and increased testosterone and Se content in blood serum (El-Sharawy *et al.*, 2017). Boar spermatozoa with Se deficiency have a low fecundating capacity due to their limited mobility associated with abnormal development of their flagellum (Ahsan *et al.*, 2014). In dairy goats, the Se and vitamin E deficiency reduced the immune response and compromises the health and productive behavior of the female and her offspring (Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2005).

The inclusion of Se in the diet, or by parenteral application, improved weight gain in lambs, the fertility of the sheep and the immune response in both (Vázquez-Armijo *et al.*, 2011); the above is conditioned to the achievement of the required Se concentrations in tissues and body fluids

(Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2005). La inclusión de Se en la dieta, o por aplicación parenteral, mejora la ganancia de peso de los corderos, la fertilidad de las ovejas y la respuesta inmune de ambos (Vázquez-Armijo *et al.*, 2011); lo anterior está condicionado a lograr las concentraciones requeridas de Se en tejidos y fluidos corporales (Shamberger, 1983). El suministro de Se en bolos intraruminales aumenta la concentración de Se en sangre, mejora la movilidad y viabilidad espermática, así como la respuesta a la integridad de la membrana de la célula espermática (Kendall *et al.*, 2000). El suministro de Se y Zn en humanos ha mostrado una función intrínseca de ambos, en la espermatogénesis y en el estado oxidativo general, lo cual sugiere que ambos microminerales tienen funciones importantes en la reproducción del semental ovino (Irvine, 1996; Vézima *et al.*, 1996; Oguntibeju *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2013).

La deficiencia de Se afecta la salud y producción del rebaño ovino, puede causar mortalidad alta de corderos durante la lactancia y crecimiento, reduce la ganancia de peso de ovinos en crecimiento y ocasiona problemas reproductivos como retención de placenta de las ovejas y menor calidad del eyaculado en los sementales (Andrews *et al.*, 1975; Allen *et al.*, 1986; Kendall *et al.*, 2000). En el centro del territorio mexicano se han diagnosticado desbalances de microminerales con deficiencias graves de I, Se, Zn y Cu en los rebaños ovinos, pero no se han establecido programas de suministro de minerales para corregir las deficiencias y evaluar la respuesta animal (Vázquez-Armijo *et al.*, 2011). Ramírez *et al.* (2004) diagnosticaron carencias de Se en rebaños ovinos de Tlaxcala y Puebla, México. La carencia de Cu se asocia al bajo contenido de ese mineral en el suelo y los forrajes, al pH ácido del suelo y al exceso de Fe en los forrajes y el suelo, lo cual afecta su absorción y contenido sérico en ovinos (Domínguez-Vara y Huerta-Bravo, 2008). Los problemas de bocio en ovinos están relacionados con una deficiencia natural de I, la cual probablemente involucra la carencia de Se y la presencia de contaminantes del ambiente que causan trastornos endócrinos (Domínguez-Vara *et al.*, 2017). Por lo tanto, estos desequilibrios minerales se consideran factores que afectan la salud, el crecimiento y la reproducción en rumiantes (Minson, 1990). Hay una relación estrecha entre el tamaño de los testículos y la producción de semen; así, sementales ovinos con testículos pequeños pueden no producir suficiente esperma durante el período de empadre para lograr

(Shamberger, 1983). The intraruminal Se supply in boluses increased the Se concentration in blood, improved mobility and sperm viability, as well as the response to the integrity of the sperm's cell membrane (Kendall *et al.*, 2000). The Se and Zn supply in humans has shown intrinsic functions in spermatogenesis and in the general oxidative state, which suggests that both microminerals have important functions in ram reproduction (Irvine, 1996; Vézima *et al.*, 1996; Oguntibeju *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2013).

The Se deficiency affected the health and production in sheep, in lambs caused high mortality during lactation and growth, reduced the weight gain of developing sheep and caused reproductive problems such as retained placenta in sheep and a lower quality of the ejaculate in rams (Andrews *et al.*, 1975; Allen *et al.*, 1986; Kendall *et al.*, 2000). At the centermost areas in Mexico sheep showed microminerals imbalances, with severe deficiencies of I, Se, Zn and Cu. Still, there are no mineral supply programs established to correct these deficiencies, and evaluate sheep response (Vázquez-Armijo *et al.*, 2011). Ramírez *et al.* (2004) diagnosed Se deficiencies in ovine flocks at Tlaxcala and Puebla, Mexico. The lack of Cu is associated to the low content of Se in the soil and therefore forages, the low pH in these soils, and to excess Fe in the forages and soils, which affects its absorption and serum content in sheep (Domínguez-Vara and Huerta-Bravo, 2008). Goiter problems in sheep are related to a natural I deficiency, which probably involves the lack of Se and pollutants present in the environment that cause endocrine disorders (Domínguez-Vara *et al.*, 2017). Therefore, these mineral imbalances are factors that affect the health, growth and reproduction in ruminants (Minson, 1990). There is a close relationship between the testicles size and semen production; thus, rams with small testicles may not produce enough sperm during the breeding period to achieve a good fertility rate (Mahmoud, 2013). During the breeding season, rise of sexual activity in rams increased their nutritional requirements for semen production in a short period (breeding season), which can induce Se deficiency and cause greater oxidative stress, with lower semen production and quality (Ahsan *et al.*, 2014; Zubair *et al.*, 2015). In small ruminants, Se supply to supplement the contribution of the forages includes adding premixes to their food, subcutaneous

buena tasa de fertilidad (Mahmoud, 2013). Durante la época reproductiva, el incremento de la actividad sexual de los sementales ovinos aumenta sus requerimientos nutricionales para la producción de semen en un período corto (época de empadre), esto puede inducir a deficiencia de Se y causar mayor estrés oxidativo, con menor producción y calidad del semen (Ahsan *et al.*, 2014; Zubair *et al.*, 2015). En rumiantes pequeños, el suministro de Se para complementar el aporte de los forrajes, incluye adicionar premezclas al alimento, aplicación subcutánea o bucal en solución y el uso de bolos o comprimidos de Se intraruminales; este último método puede permitir complementar el Se de forma práctica, segura y efectiva, y a un costo bajo (Langlands *et al.*, 1994, Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2004; Revilla-Vázquez *et al.*, 2008).

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos del suplemento de Se suministrado en un bolo intraruminal a sementales ovinos de las razas Hampshire y Suffolk sobre variables hemáticas, actividad de la enzima glutatión peroxidasa, concentración sérica de Se y características del eyaculado durante la época reproductiva. La hipótesis fue que el Se suministrado en un bolo intraruminal de liberación prolongada aumenta la concentración de ese mineral, la actividad de la enzima GSH-Px en la sangre, y mejora la calidad del semen durante la época reproductiva de los sementales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y período de muestreo del experimento

El estudio se realizó en la unidad de producción (UP) ovina en la localidad de Mayorazgo de León, municipio de Almoloya de Juárez, Estado de México, ubicada entre 19° 14' S y 19° 34' N, 99° 42' E y 99° 58' O, a 2500 msnm. El clima es templado subhúmedo con lluvias en verano, humedad mayor (86.59 %); semifrío subhúmedo, humedad menor (13.41 %), con temperaturas entre 15 y 22 °C y 6 y 14 °C, respectivamente, y precipitación pluvial anual de 700 a 1500 mm (INEGI, 2009). La UP es de tipo semi intensivo; tiene 10 ha de terreno, con cerca fija, una nave con tres corrales equipados con bebedero de pileta y comedero móvil, donde se alojan 250 ovejas adultas y 20 sementales.

Animales y alimentación

En el estudio se usaron 18 sementales ovinos con 2.8 ± 0.3 años de edad promedio, de las razas Hampshire (n=10,

or buccal application in solutions and boluses or intraruminal Se tablets. The last method allows Se to be complemented in a practical, safe and effective way at a low cost (Langlands *et al.*, 1994, Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2004; Revilla-Vázquez *et al.*, 2008).

This study aimed to evaluate the effects of the supplementing Se in intraruminal bolus on ovine rams of the Hampshire and Suffolk breeds on their blood variables, glutathione peroxidase enzyme activity, serum Se concentration and characteristics of the ejaculate during the reproductive season. We hypothesized that Se delivered in prolonged release intraruminal bolus increases the concentration of that mineral, the activity of the enzyme GSH-Px in the blood, and improves the quality of the semen during the breeding season of the rams.

MATERIALS AND METHODS

Location and sampling period of the experiment

The study was carried out in the ovine production unit (UP) at the town Mayorazgo de León, municipality of Almoloya de Juárez, Estado de México, located between 19° 14' S and 19° 34' N, 99° 42' E and 99° 58' W, at 2500 masl. The climate is temperate sub-humid with rains in summer, higher humidity (86.59 %); sub-humid semi-cold, lower humidity (13.41 %), with temperatures ranging between 15 and 22 °C and 6 and 14 °C, respectively, and annual rainfall of 700 to 1500 mm (INEGI, 2009). The UP is a semi-intensive type, 10 ha with a fixed fence, a ship with three pens equipped with drinking fountains and mobile feeders, housing 250 adult sheep and 20 rams.

Animals and feeding

The study used 18 rams 2.8 ± 0.3 years old, Hampshire (n=10, LW = 80.6 ± 7.6 kg) and Suffolk (n=8, LW = 86 ± 9.3 kg) breeds. The treatments were: 1) without Se supplement (n=10, five rams of each breed), and 2) with Se supplement (n=8, four rams of each breed) *via* intra-ruminal bolus. The boluses weighed 7.3 g, 5 cm long by 1.5 cm wide and 1 cm thick, rounded tips and smooth surface. The Se source was sodium selenite (Na_2SeO_3), equivalent to 500 mg of elemental Se per bolus, sufficient to cover its daily requirement (0.1 to 0.3 mg kg^{-1} MS d^{-1}) in adult sheep for more than a year (NRC, 2007). The boluses manufacturing took place at the FESC-UNAM® by melt granulation (thermoplastic granulation). Bolus

PV=80.6±7.6 kg) y Suffolk (n=8, PV=86.±9.3 kg), y los tratamientos fueron: 1) sin suplemento de S (n=10, cinco sementales de cada raza), y 2) con suplemento de Se (n=8, cuatro sementales de cada raza) a través de un bolo intraruminal. El peso de los bolos fue 7.3 g, con 5 cm de largo por 1.5 cm de ancho y 1 cm de espesor, puntas redondeadas y superficie lisa. La fuente de Se fue selenito de sodio (Na₂SeO₃), equivalente a 500 mg de Se elemental por bolo, suficiente para cubrir los requerimientos diarios de Se (0.1 a 0.3 mg kg⁻¹ MS d⁻¹) de ovinos adultos durante más de un año (NRC, 2007). Los bolos se elaboraron en la FESC-UNAM[†] mediante granulación por fusión (granulación termoplástica). La formulación y composición del bolo incluyó al selenito de sodio como Se elemental; el excipiente lipídico fue un aceite vegetal hidrogenado; se usó un agente densificador para lograr una densidad mínima de 2.36 g cm⁻³, lo cual evita la regurgitación del dispositivo y facilita su permanencia en el rumen. Según Gyurik (1988) mantener una densidad de 2.25 a 3.50 g cm⁻³ evita la regurgitación del bolo en rumiantes en pastoreo. El bolo tiene un período de efectividad de varios meses, con liberación lenta del mineral para mantener un nivel adecuado de 0.025 a 0.150 μg de Se mL⁻¹ de plasma en ovinos adultos (Puls, 1994). Judson *et al.* (1991) indicaron que el bolo de Se elemental relleno de Fe es suficientemente denso y permanece en rumen, y al contacto con el líquido ruminal libera lentamente el mineral por un período aproximado de un año. El suministro de los bolos fue vía bucal, con dosis de un bolo por semental, aplicado el primer día del experimento.

Durante el día los sementales pastorearon en praderas de zacate kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y después fueron confinados durante 16 h. Previo al pastoreo, a las 08:00, se proporcionó a los sementales un alimento balanceado (1 % del PV) con 14 % PC y 2.8 Mcal de EM kg⁻¹ de MS, el cual incluyó una premezcla de vitaminas y minerales sin Se y sin vitamina E, para cubrir requerimientos de otros minerales esenciales para ovinos (NRC, 2007).

Desarrollo experimental

Las muestras sanguíneas se obtuvieron por punción de la vena yugular durante ocho meses del estudio (julio de 2005 a febrero de 2006). La primera muestra de sangre se recolectó una semana antes de proporcionar Se a los sementales a través del bolo intraruminal; después se recolectaron muestras de sangre en las dos semanas subsiguientes (2^a y 3^a semanas de julio), y después las muestras de sangre se recolectaron en la última semana de cada mes del experimento. Durante el experimento cada semana se extrajo semen de cada semental entre las 09:00 y 10:00 h, usando una oveja inmovilizada y una vagina artificial.

formulation and composition of the included sodium selenite as elemental Se; the lipid excipient was a hydrogenated vegetable oil; a densifying agent was used to achieve a minimum density of 2.36 g cm⁻³, which prevents the device regurgitation and facilitates its permanence in the rumen. According to Gyurik (1988), maintaining a density of 2.25 to 3.50 g cm⁻³ prevents bolus regurgitation in grazing ruminants. The bolus has an effectiveness period of several months, which slowly releases the mineral to maintain an adequate level of 0.025 to 0.150 μg of Se mL⁻¹ of plasma in adult sheep (Puls, 1994). Judson *et al.* (1991) indicated that Se elemental bolus filled with Fe is sufficiently dense and remains in the rumen and in contact with the ruminal fluid slowly releasing the mineral for approximately one year. The supply of the boluses was *via* the mouth, with doses of one bolus per ram, applied on the first day of the experiment.

During the day, the rams grazed on kikuyu grass pastures (*Pennisetum clandestinum*), and then confined for 16 h. Prior to grazing, at 08:00, a balanced feed (14 % CP and 2.8 Mcal of ME kg⁻¹ DM), which included a premix of vitamins and minerals without Se and vitamin E, was fed to rams (1 % of the LW) in order to cover requirement for essential minerals (NRC, 2007).

Experimental development

During the eight months of the study blood samples were obtained *via* jugular puncture (from July 2005 to February 2006). The first blood sample was collected one week before the rams received Se through the intra-ruminal bolus; blood samples were then collected in the subsequent two weeks (2nd and 3rd weeks of July), and then in the last week of each month during the experiment. Besides, each week semen was taken from each ram between 09:00 and 10:00 h, on an immobilized female sheep and an artificial vagina. The semen evaluation was carried out during the rams breeding season, from November to January. The collected semen was tempered at 37 °C in graduated polypropylene tubes. Before the semen extraction, rams were weighed on an electronic scale, and their body condition evaluated using the scale described by Russell (1991). The scrotal circumference was measured using a tape measure.

Laboratory analysis

The laboratory analysis were carried out at the Department of Animal Nutrition and Animal Reproduction, School of Veterinary Medicine and Animal Science, Universidad Autónoma del Estado de México, Campus El Cerrillo, Toluca, México. This study was carried out between July 2005 and February 2006.

La evaluación del semen se realizó en la época reproductiva de los sementales, desde noviembre a enero. El semen recolectado en tubos de polipropileno graduados fue atemperado a 37 °C. Antes de realizar la extracción de semen los sementales se pesaron en una balanza electrónica, y la condición corporal se evaluó utilizando la escala descrita por Russell (1991). La circunferencia escrotal se midió usando una cinta métrica.

Análisis de laboratorio

Los análisis de laboratorio se realizaron en los Departamentos de Nutrición Animal y de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, Campus Universitario El Cerrillo, Toluca, México. El estudio inició en julio de 2005 y terminó en febrero de 2006.

Las determinaciones del hematocrito y la hemoglobina se realizaron mediante los procedimientos descritos por Coffin (1987).

El hemolizado de la muestra de sangre para determinar la actividad enzimática de la glutatión peroxidasa se realizó según el método propuesto por Beutler (1976), y la preparación de las soluciones para determinar la actividad enzimática de la glutatión peroxidasa fue de acuerdo con el método de Blanchflower *et al.* (1986). El hemolizado se conservó en refrigeración a 4 °C hasta el momento de su análisis mediante espectrofotometría óptica a 340 nm.

Determinación del contenido de selenio en suero sanguíneo

La concentración sérica de Se se determinó por espectrofluorimetría de barrido (AOAC, 2012) en un equipo modelo LS-30, serie 34371, Perkin Elmer, London, U.K.

Evaluaciones espermáticas

El eyaculado se evaluó en una escala de 1 a 5 en términos de volumen (mL), color y movilidad masal en un microscopio de campo claro a 10X de acuerdo con lo descrito por (Evans y Maxwell, 1990; Baril *et al.*, 1993); mientras que la concentración ($\times 10^6$) de células espermáticas se determinó en una cámara de Neubauer. Para evaluar la presencia de anomalías en la morfología espermática, se prepararon frotis del eyaculado, los cuales se secaron y tiñeron con eosina-nigrosina para después contarlos en un microscopio con el lente a 40X. En cada muestra de semen se evaluaron 200 células espermáticas y sus anomalías (total, cola enrollada, sin cola, dos colas, otras) con la técnica descrita por (Baril *et al.*, 1993).

El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial 2x2x3: 1) dos tratamientos, sin y con Se (bolo

The hematocrit and hemoglobin determinations were performed according to the procedures described by Coffin (1987).

The hemolysate blood sample used to determine the glutathione peroxidase enzymatic activity was processed following the methods by Beutler (1976), and the preparation of the solutions to determine the glutathione peroxidase enzymatic activity were prepared according to the method of Blanchflower *et al.* (1986). The hemolysate was kept at 4 °C until analysis by optical spectrophotometry at 340 nm.

Selenium content in blood serum determination

The serum concentration of Se was determined *via* spectrofluorometry scanning (AOAC, 2012) in an LS-30 model equipment, series 34371, Perkin Elmer, London, U.K.

Sperm evaluations

The ejaculate was evaluated on a scale of 1 to 5 in terms of its volume (mL), color and mass mobility on a 10X clear field microscope (Evans and Maxwell, 1990, Baril *et al.*, 1993), and the sperm cells concentration ($\times 10^6$) was determined in a Neubauer chamber. To evaluate sperm morphology abnormalities, smears of the ejaculate were prepared, dried and stained with eosin-nigrosine and counted in a microscope with a 40X lens. In each semen sample, 200 sperm cells and their abnormalities (total, rolled tail, without tail, two tails, others) were evaluated following the technique described by Baril *et al.* (1993).

The experimental design was completely randomized with a 2x2x3 factorial arrangement: 1) two treatments, with and without Se (intraruminal bolus), 2) two breeds (Hampshire and Suffolk), and 3) three months during their reproductive season (November, December and January). Each ram was an experimental unit. The data were analyzed with PROC MIXED (SAS, 2009) using the Tukey test (Steel *et al.*, 1997) for means comparison ($p \leq 0.05$). Before the analysis, the values obtained as percentages were transformed *via* the arcsine transformation.

RESULTS AND DISCUSSION

There were no effects due to the interactions on the analyzed productive and blood variables ($p > 0.05$). At the end of the experiment Suffolk rams that received the Se supplement had higher LW ($p \leq 0.05$) and GSH-Px activity ($p \leq 0.05$), compared to those without the Se bolus. The supplement with Se or the breed did not change the scrotal circumference, body condition, hematocrit, hemoglobin or serum Se

intraruminal); 2) dos razas (Hampshire y Suffolk); 3) tres meses de época reproductiva (noviembre, diciembre y enero). Cada semental fue considerado como unidad experimental. Los datos se analizaron mediante el procedimiento PROC MIXED de SAS (2009) usando la prueba de Tukey (Steel *et al.*, 1997) para comparar las medias ($p \leq 0.05$). Antes del análisis, los valores obtenidos en porcentaje se procesaron con la transformación arcoseno.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No hubo efecto de las interacciones en las variables productivas y hemáticas analizadas ($p > 0.05$). Al finalizar el experimento los sementales Suffolk que recibieron un suplemento con Se tuvieron mayor PV ($p \leq 0.05$) y la actividad de GSH-Px fue superior ($p \leq 0.05$), comparados con los que no recibieron el bolo con Se. Pero el suplemento con Se o el efecto de la raza no cambiaron la circunferencia escrotal, condición corporal, hematocrito, hemoglobina y contenido sérico de Se ($p > 0.05$) (Cuadro 1). Mahmoud *et al.* (2013) no observaron efecto del Se combinado con vitamina E en el PV, ganancia de peso o circunferencia escrotal de sementales ovinos. Los valores de hematocrito, hemoglobina y contenido sérico de Se fueron adecuados según lo descrito por Wheatley y Beck (1988) y Puls (1994). En contraste, la actividad

content ($p > 0.05$) (Table 1). Mahmoud *et al.* (2013) did not observed effect of Se combined with vitamin E in LW, weight gain or scrotal circumference on rams. The hematocrit, hemoglobin and Se serum content were adequate as described by Wheatley and Beck (1988) and Puls (1994). In contrast, GSH-Px activity was deficient in both breeds with and without the Se bolus supply, since the normal activity value for sheep is $130 \text{ U g}^{-1} \text{ Hb}$ (Ceballos and Wittwer, 1996). The Se bolus increased, consistently and sustained, the activity of the GSH-Px enzyme in the rams treated during the study period; however, although the Se concentration in blood serum was adequate for both groups of rams with and without Se, the GSH-Px enzyme activity was deficient. The significant increase of the Se level in blood serum of rams treated with the Se bolus is consistent with the results from Kumar *et al.* (2013) in goat males treated with organic Se and Zn, as well as with the results from El-Sharawy *et al.* (2017) in buffaloes treated with organic Se (Se yeast) and inorganic Se (sodium selenite). However, in contrast to our results, sodium selenite combined with vitamin E produced adequate activity of the GSH-Px enzyme in Ossimi breed rams (Mahmoud *et al.*, 2013).

Cuadro 1. Promedios de peso vivo, circunferencia escrotal, condición corporal, valores de hematocrito, hemoglobina, actividad de la glutatión peroxidasa y concentración de selenio en suero sanguíneo de sementales ovinos de las razas Hampshire y Suffolk sin o con selenio en un bolo intraruminal.

Table 1. Live weight averages, scrotal circumference, body condition, hematocrit values, hemoglobin, glutathione peroxidase activity and blood serum selenium concentration in Hampshire and Suffolk rams, without or with selenium in an intraruminal bolus.

Variable	Selenio		Raza		EEM [†]	Efectos de [‡]	
	Testigo	Bolo c/Se	Hampshire	Suffolk		Se	Raza
Peso vivo, kg	84.88 a	83.14 a	80.83 b	88.64 a	6.5362	ns	**
Condición corporal, escala 1-5	3.66 a	3.68 a	3.72 a	3.60 a	0.2907	ns	ns
Circunferencia escrotal, cm	32.98 a	33.17 a	32.94 a	33.27 a	1.4597	ns	ns
Hematocrito, %	33.85 a	35.92 a	33.54 a	35.21 a	4.0970	ns	ns
Hemoglobina [§] , mg dL ⁻¹	11.28 a	11.97 a	11.18 a	11.63 a	1.3060	ns	ns
Actividad de GSH-Px [§] (U g ⁻¹ Hb)	97.16 b	105.07 a	85.60 a	85.68 a	39.070	*	ns
Concentración Se [§] (μg mL ⁻¹)	0.10 a	0.16 a	0.15 a	0.16 a	0.0350	ns	ns

ab Valores en un renglón, para el mismo factor, con letra diferente son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) ♦ Values in a row, for the same factor, with different letter are statistically different ($p \leq 0.05$).

[†]EEM: error estándar de la media ♦ EEM: standard error of the mean.

*NS: No significativo ($p > 0.05$; * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$) ♦ NS: Not significant ($p > 0.05$; * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$).

[§]Valor normal: actividad de GSH-Px, deficiente $< 130 \text{ U g}^{-1} \text{ Hb}$ (Ceballos y Wittwer, 1996); hematocrito, 29-38 %; hemoglobina, 8-16 g dL⁻¹; Se, adecuado=0.08-0.5, marginal=0.03-0.07, deficiente=0.006-0.03 μg mL⁻¹ (Wheatley y Beck, 1988; Puls, 1994) ♦ Normal value: GSH-Px activity, deficient $< 130 \text{ U g}^{-1} \text{ Hb}$ (Ceballos and Wittwer, 1996); hematocrit 29-38 %; hemoglobin 8-16 g dL⁻¹; Se adequate = 0.08-0.5, marginal = 0.03-0.07, deficient = 0.006-0.03 μg mL⁻¹ (Wheatley and Beck, 1988; Puls, 1994).

de GSH-Px fue deficiente en los sementales de ambas razas con y sin suministro del bolo de Se, dado que el valor normal de actividad para ovinos es $130 \text{ U g}^{-1} \text{ Hb}$ (Ceballos y Wittwer, 1996). El bolo de Se aumentó, de forma consistente y sostenida, la actividad de la enzima GSH-Px en los sementales tratados durante el período de estudio; sin embargo, aunque la concentración de Se en suero sanguíneo fue adecuada para ambos grupos de sementales con y sin Se, la actividad de la enzima GSH-Px fue deficiente. El aumento significativo del nivel de Se en suero sanguíneo de los sementales tratados con el bolo con Se es consistente con los resultados de (Kumar *et al.*, 2013) en sementales caprinos tratados con Se y Zn orgánicos, así como con los resultados de (El-Sharawy *et al.*, 2017) en búfalos tratados con Se orgánico (levadura de Se) y Se inorgánico (selenito de sodio). Pero, en contraste con los resultados de nuestro estudio, el selenito de sodio combinado con vitamina E, produjo actividad adecuada de la enzima GSH-Px en sementales ovinos de la raza Ossimi (Mahmoud *et al.*, 2013).

Los valores promedio para PV, circunferencia escrotal y condición corporal de los sementales fueron similares ($p > 0.05$) entre los meses de estudio (Cuadro 2); en contraste, los valores promedio de hematocrito, hemoglobina, actividad de GSH-Px y contenido de Se en suero sanguíneo fueron diferentes ($p \leq 0.05$) entre los meses de estudio (Figura 1 y Cuadro 2). El valor del hematocrito fue menor en julio y mayor en octubre, pero con niveles adecuados en todo el periodo (29 a 38 %). El contenido de hemoglobina fue adecuado ($8 \text{ a } 16 \text{ mg dL}^{-1}$) (Puls, 1994). La actividad enzimática de GSH-Px fue menor en julio y mayor en enero; sin embargo, según el rango óptimo indicado por Ceballos y Wittwer (1996), la actividad enzimática de GSH-Px fue baja, solamente en enero tuvo un valor superior a $130 \text{ U g}^{-1} \text{ Hb}$. El nivel de Se en suero sanguíneo fue adecuado ($0.08 \text{ a } 0.5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$) por el suministro de Se, según el rango propuesto por Wheatley y Beck (1988) y Puls (1994). Kendall *et al.* (2001a,b) observaron efectos en el contenido sérico de Se y mayor actividad de la enzima GSH-Px al dar el Se en bolos intraruminales. Sin embargo, la actividad de la GSH-Px, de ambos grupos de sementales, fue menor a $60 \text{ U g}^{-1} \text{ Hb}$, en el muestreo basal de julio y en los de septiembre y octubre (Figura 1). Aunque la actividad de GSH-Px fue mayor en los sementales tratados con Se, solo en enero fue mayor a $130 \text{ U g}^{-1} \text{ Hb}$. Kendall *et al.* (1997a,b) encontraron

During the study, and between the months the LW mean values, scrotal circumference and body condition from the rams were similar ($p > 0.05$) (Table 2); in contrast, the hematocrit mean values, hemoglobin, GSH-Px activity and Se content in blood serum were different ($p \leq 0.05$) (Figure 1 and Table 2). The hematocrit value was lower in July and higher in October, but with adequate levels throughout the period (29 to 38 %). The hemoglobin content was adequate ($8 \text{ to } 16 \text{ mg dL}^{-1}$) (Puls, 1994). The GSH-Px enzymatic activity was lower during July and higher in January; however, according to the optimum range indicated by Ceballos and Wittwer (1996), the GSH-Px enzymatic activity was low, and only during January it had values higher than $130 \text{ U g}^{-1} \text{ Hb}$. The Se level in blood serum was adequate ($0.08 \text{ to } 0.5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$) for the Se supply, according to the range proposed by Wheatley and Beck (1988) and Puls (1994). Kendall *et al.* (2001a, b) observed effects on the Se serum content and increased GSH-Px activity of the enzyme when giving Se in intraruminal boluses. However, the GSH-Px activity, of both rams groups, was less than $60 \text{ U g}^{-1} \text{ Hb}$ in the basal samplings from July to September and October (Figure 1). Although the GSH-Px activity was higher in the rams treated with Se, only in January it was higher than $130 \text{ U g}^{-1} \text{ Hb}$. Kendall *et al.* (1997a, b) found similar Se serum levels in Se treated lambs, with Co and Zn in a soluble crystal bolus, although serum Se was adequate in the control and treated group. Similar results were found with intraruminal boluses with Se, Co and Zn in sheep (Kendall *et al.*, 1997a, b; Kendall *et al.*, 1999, 2000). Therefore, the intraruminal application of boluses with Se is an adequate, practical, safe and economical method to provide a sustained supplement with trace minerals, such as Se, to improve semen quality during the reproductive period

There was no interaction effect for semen quality variables (Table 3). Greater motility of the sperm was induced ($p \leq 0.05$), also the number of live ($p \leq 0.05$) and normal ($p \leq 0.01$) sperm in the semen increased. Suffolk rams showed higher semen quality in terms of their volume ($p \leq 0.01$), color ($p \leq 0.05$), density ($p \leq 0.01$) and concentration ($p \leq 0.05$). The extracted ejaculates from January showed higher values in the mobility, density ($p \leq 0.01$) and concentration variables ($p \leq 0.05$) from sperm cells.

Cuadro 2. Promedios mensuales de PV, circunferencia escrotal, condición corporal, hematocrito, hemoglobina, actividad de GSH-Px y concentración de selenio sanguíneo en sementales ovinos de las razas Hampshire y Suffolk sin o con selenio en un bolo intraruminal.
Table 2. Monthly averages of PVLW, scrotal circumference, body condition, hematocrit, hemoglobin, GSH-Px activity and blood selenium concentration in Hampshire and Suffolk rams with or without selenium in an intra-ruminal bolus.

Variable	Mes de muestreo										
	Jul. S1 [‡]	Jul. S2	Jul. S3	Ago [§]	Sept.	Oct.	Nov.	Dic.	Ene.	Feb.	EEM [†]
Peso vivo (kg)	83.3a	84.2a	84.5a	85.1a	85.0a	84.2a	83.1a	85.6a	83.2a	79.0a	2.9230
Condición corporal (escala 1-5)	3.4a	3.4a	3.5a	3.5a	3.4a	3.6a	3.6a	3.7a	3.7a	3.5a	0.1299
Circunferencia escrotal (cm)	32.9a	33.1a	33.3a	32.5a	33.1a	32.5a	34.2a	32.6a	32.1a	33.0a	0.6528
Hematocrito (%)	34.6b	35.7ab	31.7b	33.4b	35.4ab	39.1a	33.7b	33.9b	31.8b	33.6b	1.8325
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	11.5bc	11.9ab	10.5bc	11.1bc	11.8abc	13.0a	11.2bc	11.1bc	10.3c	11.0bc	0.5844
Actividad GSH-Px (U g ⁻¹ Hb)	30.1d	91.7bc	89.4bc	96.1bc	92.0bc	93.0bc	113.5ab	118.1ab	143.9a	119.4ab	17.471
Contenido de Se (mg mL ⁻¹)	0.04d	0.09d	0.11d	0.13cd	0.17ab	0.18a	0.16abc	0.15bcd	0.12d	0.17ab	0.0160

abcd: Valores en un renglón con letra diferente son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) ♦ Values in a row with different letters are statistically different ($p \leq 0.05$).

[†]EEM: error estándar de la media ♦ EEM: standard error of the mean.

[‡]Muestreos de sangre semanas 1, 2 y 3 en julio, [§]4 a 10 cada mes de agosto de 2005 a febrero de 2006 ♦ Blood sampling weeks 1, 2 and 3 in July, [§]4 to 10 each month from August 2005 to February 2006.

niveles séricos de Se similares en corderos tratados con Se, Co y Zn en un bolo de cristal soluble, no obstante que el nivel de Se en suero fue adecuado en el grupo testigo y tratado. Resultados similares se encontraron con bolos intraruminales con Se, Co y Zn en ovinos (Kendall *et al.*, 1997a,b; Kendall *et al.*, 1999; 2000). Por ello, la aplicación intraruminal de bolos con Se es un método adecuado, práctico, seguro y económico, para dar de forma sostenida un suplemento con algunos minerales traza como el Se para mejorar la calidad del semen en la época reproductiva.

No hubo efecto de las interacciones para ninguna de las variables de la calidad del semen (Cuadro 3). El Se indujo mayor movilidad de los espermatozoides ($p \leq 0.05$), también aumentó la cantidad de espermatozoides vivos ($p \leq 0.05$) y normales ($p \leq 0.01$) en el semen; los sementales Suffolk mostraron mejor calidad de semen en cuanto a volumen ($p \leq 0.01$), color ($p \leq 0.05$), densidad ($p \leq 0.01$) y concentración ($p \leq 0.05$). Los eyaculados extraídos en enero mostraron valores mayores en las variables de movilidad, densidad ($p \leq 0.01$) y concentración ($p \leq 0.05$) de células espermáticas.

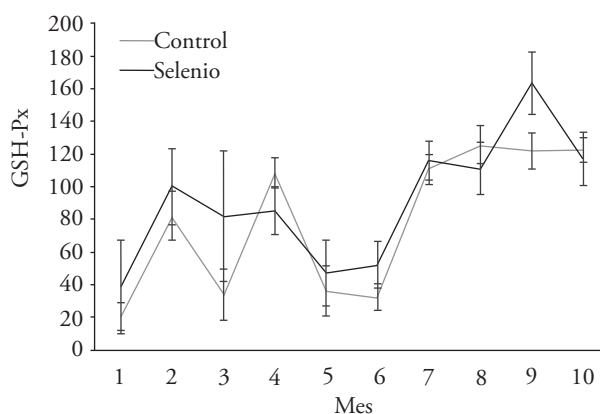


Figura 1. Actividad de la enzima GSH-Px (U g⁻¹ Hb) en sangre de sementales Hampshire y Suffolk sin o con selenio en un bolo intraruminal. Los muestreos 1 al 3 corresponden a las semanas 1, 2 y 3 del mes de julio; los muestreos 4 al 10 corresponden a los meses de agosto de 2005 a febrero de 2006.

Figure 1. GSH-Px enzyme activity (U g⁻¹ Hb) in blood from Hampshire and Suffolk rams with or without selenium in an intra-ruminal bolus. Samples 1 to 3 correspond to weeks 1, 2 and 3 of July; samples 4 to 10 correspond to August 2005 to February 2006.

El aumento significativo en las variables de movilidad, concentración, espermatozoides vivos y normales en el semen eyaculado de los sementales tratados con Se es consistente con los resultados de (Mahmoud *et al.*, 2013) en sementales ovinos de la raza Ossimi tratados con Se y vitamina E; también coinciden con los resultados de (El-Sharaw *et al.*, 2017) en búfalos tratados con levadura de Se y selenito de sodio. De forma similar, Kumar *et al.* (2013) indicaron que en sementales caprinos tratados con Se y Zn orgánicos se mejoró significativamente su estado antioxidativo, con lo cual los espermatozoides fueron mejor protegidos del daño oxidativo para producir un esperma de mejor calidad.

El aumento de la movilidad de células espermáticas, así como del porcentaje de espermatozoides vivos y normales de sementales suplementados con Se, probablemente se relaciona con la mayor actividad de la enzima GSH-Px promovida por el Se suministrado a través del bolo intraruminal. Esto coincide con los hallazgos de Kendall *et al.* (2000) en sementales ovinos tratados con bolos de cristal soluble conteniendo Zn, Co y Se. El Se adicional, suministrado con un bolo intraruminal, incrementó la actividad de la enzima GSH-Px mediante su función antioxidante, proporcionando mayor protección contra la peroxidación lipídica espontánea de la membrana plasmática de la célula espermática creando una barrera con permeabilidad selectiva, suministrando enzimas

The significant increase in the mobility variables, concentration, live and normal sperm in the ejaculated semen of the rams treated with Se is consistent with the results reported by Mahmoud *et al.* (2013) for Ossimi breed rams treated with Se and vitamin E and, besides, besides, with the results in buffaloes treated with Se yeast and sodium selenite (El-Sharaw *et al.*, 2017). Similarly, Kumar *et al.* (2013) indicated that goat males treated with organic Se and Zn significantly improved their antioxidant status, the sperm was better protected from oxidative damage and the sperm quality was better.

The increase in the sperm cells mobility, as well as the percentage of live and normal sperm from rams supplemented with Se, is probably related to the increased activity of the GSH-Px enzyme promoted by the intra-ruminal bolus. This coincides with findings from Kendall *et al.* (2000) in rams treated with soluble crystal boluses containing Zn, Co and Se. The additional Se supplied with intra-ruminal bolus increased GSH-Px enzyme activity through its antioxidant function, providing greater protection against spontaneous lipid peroxidation of the plasma membrane in sperm cells, creating a barrier with selective permeability, supplying enzymes and cytoplasmic substrates that increase mobility and survival of the spermatozoid (Álvarez and Storey, 1984; Zubair *et al.*, 2015). Therefore, in rams that

Cuadro 3. Promedios de las variables de calidad del eyaculado proveniente de sementales ovinos de las razas Hampshire y Suffolk sin y con selenio en bolo intraruminal.

Table 3. Averages of ejaculate quality variables from Hampshire and Suffolk rams with and without selenium in intra-ruminal bolus.

Variable	Selenio		Raza		Mes			Efectos de [§]			
	Testigo	Bolo c/Se	Hampshire	Suffolk	Nov.	Dic.	Ene.	EEM [†]	Se	Raza	Mes
Volumen (mL)	0.91a	0.87a	0.80b	1.03a	0.86b	0.92a	0.86b	0.298	ns	**	ns
Color (escala 1-5)	2.89a	2.98a	2.88b	3.02a	2.83a	2.96a	3.02a	0.416	ns	*	ns
Movilidad masal (escala 1-5)	3.20b	3.47a	3.20a	3.40a	3.04b	3.33b	3.69a	0.723	*	ns	**
Densidad	3.07a	2.98a	2.98b	3.37a	2.88b	3.10b	3.68a	0.687	ns	**	**
Concentración (millones/mL ⁻¹)	1,850a	1,829a	1,729b	1,850a	1,723b	1,742b	1,892a	256.4	ns	*	*
Células vivas (%)	92.18b	93.94a	92.72a	93.55a	93.50a	92.80a	92.70a	2.661	*	ns	ns
Células normales (%)	91.98b	94.33a	92.80a	93.04a	93.59a	92.61a	92.34a	2.562	**	ns	ns

ab: Valores con diferente letra en un renglón son estadísticamente diferentes (p≤0.05) ♦ Values with different letter in a row are statistically different (p≤0.05).

[†]EEM: error estándar de la media ♦ EEM = standard error of the mean.

*NS: no significativo (p>0.05); *p≤0.05; **p≤0.01) ♦ NS = not significant (p 0.05), * p≤0.05, ** p≤0.01).

y sustratos citoplásmicos que incrementan la movilidad y sobrevivencia del espermatozoide (Álvarez y Storey, 1984; Zubair *et al.*, 2015). Por lo tanto, los sementales ovinos que recibieron el bolo con Se mejoraron la calidad del semen probablemente mediante la formación de selenoproteínas en el tejido testicular, con mayor estimulación de la espermatogénesis (Ahsan *et al.*, 2014). El Se afecta directamente las células intersticiales de los testículos, de esta forma, puede mejorar la función testicular y la calidad del semen (Underwood, 1977), y de forma indirecta, vía el efecto sobre la secreción de hormonas de la glándula pituitaria anterior (Yousef *et al.*, 1990). El suministro de Se combinado con vitamina E aumenta la concentración sérica de testosterona, la actividad de la enzima GSH-Px, con mayor manifestación de los caracteres sexuales secundarios masculinos (Bearden y Fuquay, 1997; Mahmoud *et al.*, 2013). Además, el Se es necesario para el desarrollo de las células germinales de los testículos durante la formación de los espermatozoides y tiene efectos positivos sobre el total de células germinales en adultos (Liu *et al.*, 1982). En campo, la mejora en las variables indicadas en nuestro estudio, puede influir favorablemente en la calidad del eyaculado y, por lo tanto, en la fertilidad del semen de los sementales; sin embargo, en ovinos, estos resultados deben ser confirmados con nuevos estudios.

CONCLUSIONES

Los bolos de cristal soluble con selenito de sodio aumentan la concentración de Se en suero y la actividad de la enzima GSH-Px de manera sostenida; además, mejoran la movilidad y la viabilidad del eyaculado de sementales Hampshire y Suffolk.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma del Estado de México, UAEM, por el financiamiento otorgado para la realización del proyecto de investigación con clave 2019/2005UAEM. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACyT, por la beca otorgada para cursar estudios de maestría en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UAEM.

LITERATURA CITADA

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

received the Se bolus, semen quality was probably improved by the formation of selenoproteins in the testicular tissue, with greater spermatogenesis stimulation (Ahsan *et al.*, 2014). It directly affects the interstitial cells of the testes, thus improving testicular function and semen quality (Underwood, 1977), and indirectly, *via* the effect on hormones secretion from the anterior pituitary gland (Yousef *et al.*, 1990). The supply of Se combined with vitamin E increases the testosterone serum concentration, the activity of the GSH-Px enzyme, and altogether a greater manifestation of male secondary sex characteristics (Bearden and Fuquay, 1997, Mahmoud *et al.*, 2013). Besides, Se is necessary for germ cells development in the testes during spermatozoa formation and has positive effects on the total germ cells in adults (Liu *et al.*, 1982). In the field, the improvement in variables indicated in our study can favorably influence the quality of the ejaculate and, therefore, in the semen fertility of the rams; however, in sheep, these results should be confirmed with new studies.

CONCLUSIONS

Soluble bolus with sodium selenite increase Se concentration in serum and GSH-Px enzyme activity in a sustained manner; in addition, they improve the mobility and viability of the ejaculate in Hampshire and Suffolk rams.

—End of the English version—

—*—

- Allen, J. G., P. Steele, H. G. Nasters, and N. F. Dantouono. 1986. A study of nutritional myopathy in weaner sheep. *Aust. Vet. J.* 68: 8-13.
- Alvarez, J. G., and B. T. Storey. 1984. Assessment of cell damage caused by spontaneous lipid peroxidation in rabbit spermatozoa. *Biol. Reprod.* 30: 323-331.
- Andrews, E. D., R. G. Hogan, and A. D. Sheppard. 1975. Selenium in soil, pastures and animal tissues in relation to the growth of young sheep on a marginally selenium deficient area. *N. Z. Vet. J.* 24: 111-116.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. 2012. *Official Methods of Analysis*. 19th ed. AOAC: International, USA. pp: 34-36.
- Agarwal, A., G. Virk, C. Ong, and S. S. du Plessis. 2014. Effect of oxidative stress on male reproduction. *The World J. Men's Health.* 32: 1-17.

- Bansal, A. K., and G. S. Bilaspuri. 2011. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Vet. Medicine Int.* 2011: 686137.
- Baril, G., P. Chemineau, Y. Cognie, Y. Guérin, B. Leboeuf, P. Orgeur, J. C. et Vallet. 1993. Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins. Monnaie. Organisation des Nations Unies pour L'alimentation et L'agriculture. 111 p.
- Bearden, H. J., and J. W. Fuquay. 1997. *Applied Animal Reproduction*. 4th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, USA. 351 p.
- Beutler, G. E. 1976. *Red Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods*. 2nd Ed. Grune and Streaton, N.Y., USA. 160 p.
- Blanchflower, W. J., D. C. Rice, and W. B. Davidson. 1986. Blood glutathione peroxidase. A method for measurement and the influence of storage, cyanide and Drabkin's reagent on enzyme activity. *Biolog. Trace Element Res.* 11: 89-100.
- Ceballos M., A., y F. Wittwer G. 1996. Metabolismo del selenio en rumiantes. *Arch. Med. Vet.* 2: 5-18.
- Coffin L., D. 1987. *Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria*. Ediciones Científicas la Prensa Médica Mexicana. pp: 125-162.
- Domínguez-Vara I., A., y M. Huerta-Bravo. 2008. Concentración e interrelación mineral en suelo, forraje y suero de ovinos durante dos épocas en el Valle de Toluca, México. *Agrociencia* 42: 173-183.
- Domínguez-Vara I., A., F. Salazar-García, R. Montes de Oca-Jiménez, I. Medina-Torres, J. G. Vicente-Martínez, and J. Pinos-Rodríguez M. 2017. Sheep fetal goiter: study case in Mexico. *Trop. and Subtrop. Agroecosyst.* 20: 307-313.
- El-Sharawy, M., E. Eid, S. Darwish, I. Abdel-Razek, M. Islam, K. Kubota, and I. El-Shamaa. 2017. Effect of organic and inorganic selenium supplementation on semen quality and blood enzymes in buffalo bulls. *Anim. Sci. J.* 88: 999-1005.
- Evans G., y C. Maxwell W. 1990. Conservación de semen congelado. *In: Inseminación Artificial en Ovejas y Cabras*. Evans, G., y C. W. Maxwell. (eds). Edit. Acribia, Zaragoza, España. pp: 123- 142.
- Gyurik, R. J. 1988. Rumen Retention Devices. *In: Tyle, P. (ed). Drug Delivery Devices*. Marcel Dekker, Ney York. pp: 549-561.
- Holben, D. H., and A. M. Smith. 1999. The diverse role of selenium within selenoproteins: A review. *J. Am. Dietetic Assoc.* 99: 836-843.
- INEGI. 2009. *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Almoloya de Juárez, México, Clave geoestadística 15005; 2009*. inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/15/15005.pdf. (Consulta: julio 2016).
- Irvine, D. S. 1996. Glutathione as a treatment for male infertility. *Rev. Reprod.* 1: 12.
- Judson, G. H., N. F. Ellis, B. R. Kempe, and M. Shallow. 1991. Long-acting selenium treatment for sheep. *Aust. Vet. J.* 68: 263-265.
- Kendall, N. R., A. M. Mc Kenzie, and S. B. Telfer. 1997a. The use a soluble glass bolus to prevent zinc deficiency in sheep. *In: Fisher, P. W. F., M. R. Abbe, K. A. Cockell, and R. S. Gibson (eds). Trace Element in Men and Animals-9: Proc. Ninth Int. Symp. Trace Elements in Man and Animals*. NRC Research Press, Ottawa, Canada. pp: 303-305.
- Kendall, N. R., A. M. Mc Kenzie, and S. B. Telfer. 1997b. Effect a soluble cobalt, selenium and zinc glass bolus on humoral immune response and trace elements status in lambs. *In: Fisher, P. W. F., M. R. Abbe, K. A. Cockell, and R. S. Gibson (eds). Trace element in men and animals-9: Proc. Ninth Int. Symp. Trace Elements in Man and Animals*. NRC Research Press, Ottawa Canada. pp: 442-444.
- Kendall, N. R., N. C. Farrar, D. V. Illingworth, D. W. Jackson, and S. B. Telfer. 1999. The use of a soluble glass copper, cobalt and selenium bolus to supply selenium to sheep. *Proc. Brit. Soc. Anim. Sci.* 99 p.
- Kendall, N. R., S. McMullen, A. Green, and R. G. Rodway. 2000. The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on trace element status and semen quality of ram lambs. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 277-283.
- Kendall, N. R., A. M. Mackenzie, and S. B. Telfer. 2001a. The effect of a copper, cobalt and selenium soluble glass bolus given to grazing sheep. *Liv. Prod. Sci.* 68: 31-39.
- Kendall, N. R., D. W. Jackson, A. M. Mackenzie, D. V. Illingworth, I. M. Gill, and S. B. Telfer. 2001b. The effect of a zinc, cobalt and selenium soluble glass bolus on the trace element status of extensively grazed sheep over winter. *Anim. Sci.* 73: 163-169.
- Kumar, P., B. Yadav, and S. Yadav. 2013. Effect of zinc and selenium supplementation on antioxidative status of seminal plasma and testosterone, T₄ and T₃ level in goat blood serum. *J. Appl. Anim. Res.* 41: 382-386.
- Langlands, J. P., G. E. Donald, J. E. Bowles, and A. J. Smith. 1994. Selenium supplements for grazing sheep 4. The use of intraruminal pellets containing elevated quantities of selenium. *Anim. Feed Sci. Technol.* 46: 109-118.
- Liu, C. H., Y. M. Chen, J. Z. Zhang, M. Y. Huang, Q. Su, Z. H. Lu, R. X. Yin, G. Z. Shao, D. Feng, P. L. Zheng. 1982. Preliminary studies on influence of selenium deficiency to the developments of genital organs and spermatogenesis of infancy boars. *Acta Vet. Zootech. Sin.* 13: 73-77.
- Mahmoud, G. B. 2013. Sexual behaviour, testosterone concentration, semen characteristics and testes size of Ossimi rams as affected by age and scrotal circumference. *Egyptian J. Anim. Prod.* 50: 53-58.
- Mahmoud, G. B., S. M. Abdel-Raheem, and H. A. Hussein. 2013. Effect of combination of vitamin E and selenium injections on reproductive performance and blood parameters of Ossimi rams. *Small Rum. Res.* 113: 103-108.
- Minson, D. J. 1990. *Forages in Ruminant Nutrition*. Academic Press. USA. 463 p.
- NRC. 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. Animal Nutrition Series. National Research Council. National Academy Press U.S.A. 362 p.
- Oguntibeju, O. O., J. S. Esterhuysen, and E. J. Truter. 2009. Selenium: its potential role in male infertility. *Pak. J. Med. Sci.* 25: 332-337.
- Puls, R. 1994. *Minerals Levels in Animal Health*. Diagnostic Data. Sherpa International. Clabrook, Canada. pp: 83-109.
- Ramírez-Briebesca J., E., J. Tórtora L, M. Huerta B, L. Hernández M, R. López, y M. Crosby M. 2005. Effect of selenium-vitamin E injection in selenium-deficient dairy goats and kids on the Mexican plateau. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.* 57: 77-84.

- Ramírez B., E., C., Hernández E, C. Hernández L, y J. Tórtora P. 2004. Efecto de un suplemento parenteral con selenito de sodio en la mortalidad de corderos y los valores hemáticos de selenio. *Agrociencia* 38: 43-51.
- Revilla-Vázquez A., E. Ramírez-Bribiesca, R. López-Arellano, L. Hernández-Calva, J. Tórtora-Pérez, E. García-García, y M. Cruz R. G. 2008. Suplemento de selenio con bolos intraruminales de selenito de sodio en ovinos. *Agrociencia* 42: 629-635.
- Russel, A. 1991. Body condition scoring of sheep. *In*: E. Boden, editor. *Sheep and Goat Practice*. Philadelphia, USA: Bailliere Tindal. pp: 156-162.
- SAS. 2009. SAS/STAT® 9.2 User's Guide, 2nd Ed. SAS Institute Inc, Cary, N. C., U.S.A.
- Shamberger, R. J. 1983. *Biochemistry of Selenium*. Plenum Press. USA. 334 p.
- Silva J., H., M. Quiroga A, y N. Auza J. 2000. Selenio en el rumiante. *Relaciones suelo, planta, animal*. *Med. Vet.* 17: 229-246.
- Steel, R. G. D., J. H. Torrie, and D. A. Dickey. 1997. *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*. 3rd ed. McGraw-Hill Series in Probability and Statistics. USA. 622 p.
- Vázquez-Armijo J., F. R. Rojo R, D. López, J. Tinoco L, A. González, N. Pescador S, and I. Domínguez-Vara A. 2011. Trace elements in sheep and goats reproduction: a review. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 14: 1-13.
- Vézina, D., F. Mauffette, K. D. Robert, and G. Bleau. 1996. Selenium vitamin E supplementation in infertile men effect on semen parameters and micronutrient levels and distribution. *Biol. Trace Element. Res.* 53: 55-83.
- Underwood, E. J. 1977. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, 3rd. ed. Academic Press, New York, USA. 560 p.
- Wheatley, L. E., and N. F. G. Beck. 1988. The influence of season and husbandry on the selenium status of sheep in a deficient area. *Brit. J. Vet. Med.* 43: 246-251.
- Yousef, H. M., A. Abul-Ela, E. R. Farag, Y. L. Awad, F. E. El-Keraby, H. A. Hassanin, 1990. Effect of pre-partum selenium injection on reproductive and lactational performance and post-partum hormone profile in dairy cows. *In*: *Proceedings of 4th Scientific Congress Faculty of Veterinary Medicine Assiut, University Assiut, Egypt*, pp: 445-454.
- Zubair, M., M. Ali, M. Ahmad, S. M. Sajid, I. Ahmad, and S. T. Gul. 2015. Effect of selenium and vitamin E on cryopreservation of semen and reproductive performance of animals (a review). *J. Entomol. Zool. Studies.* 3: 82-86.