

EFECTO DE UN SUPLEMENTO PARENTERAL CON SELENITO DE SODIO EN LA MORTALIDAD DE CORDEROS Y LOS VALORES HEMÁTICOS DE SELENIO

EFFECT OF PARENTERAL SUPPLEMENT WITH SODIUM SELENITE ON LAMB MORTALITY AND HEMATIC VALUES OF SELENIUM

Efrén Ramírez-Bribiesca¹, Efrén Hernández-Camacho², Luz M. Hernández-Calva³ y Jorge L. Tórtora-Pérez⁴

¹Programa en Ganadería. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad. Colegio de Posgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México (efrenrb@colpos.mx). ²SAGARPA, Tlaxcala. ³Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. ⁴Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.

RESUMEN

En la región ganadera del sureste del Estado de Tlaxcala y la montaña del Estado de Puebla, la mortalidad de los corderos del nacimiento a los 60 d de edad fue 62%. Los corderos presentaron signos de miopatía nutricional y el principal hallazgo a la necropsia fue la distrofia muscular nutricional (DMN), por deficiencia de selenio (Se). Los niveles de Se en suero sanguíneo, forraje y suelo fueron $0.02 \mu\text{g mL}^{-1}$, $0.05 \mu\text{g g}^{-1}$ y $0.023 \mu\text{g g}^{-1}$. El pH del suelo fue 5.8. La concentración de Se en el suero en diferentes grupos de edades fue extremadamente baja: Grupo(i) 0-2 meses, $0.020 \pm 0.0023 \mu\text{g mL}^{-1}$; (ii) 3-8 meses, $0.021 \pm 0.0023 \mu\text{g mL}^{-1}$; (iii) 9-18 meses, $0.024 \pm 0.0022 \mu\text{g mL}^{-1}$; (iv) 19-30 meses, $0.024 \pm 0.0019 \mu\text{g mL}^{-1}$; (v) mayores de 30 meses, $0.018 \pm 0.0016 \mu\text{g mL}^{-1}$; ($p > 0.05$). Cuarenta y cinco corderos de 3 a 7 d de edad, nacidos de borregas selenodeficientes, se dividieron en tres grupos para comparar la efectividad de la inyección de Se. Grupo C1: Testigo; C2: $0.25 \text{ mg Se kg}^{-1}$; C3: $0.5 \text{ mg Se kg}^{-1}$. La concentración de Se se incrementó rápidamente en sangre 20 d después de iniciar el tratamiento, 44% en C2 y 163% en C3 ($p \leq 0.01$). La aplicación de Se (0.25 y $0.5 \text{ mg Se kg}^{-1}$) incrementó la concentración de Se en sangre de corderos y ambas dosis fueron efectivas para prevenir la enfermedad de músculo blanco y mejorar la supervivencia de los corderos hasta el destete.

Palabras clave: Deficiencia de selenio, inyección de selenio, mortalidad, ovinos.

INTRODUCCIÓN

El mayor porcentaje de mortalidad en corderos ocurre durante la etapa perinatal y neonatal, y más de la mitad de las muertes se presentan en la primera semana de vida. Las pérdidas son ocasionadas por enfermedades infecciosas, principalmente diarreas y neumonías, y por inanición y exposición (Pijoan, 1986). Además, por desbalances nutricionales asociados con la localización geográfica y las características o manejo del

ABSTRACT

In the livestock region of the southeast of the State of Tlaxcala and the mountain area of the State of Puebla, the mortality of the lambs from birth to 60 d of age was 62%. The lambs had symptoms of nutritional myopathy and the main finding at necropsy was nutritional muscular dystrophy (NMD), due to selenium (Se) deficiency. Se levels in blood serum, forage and soil were $0.02 \mu\text{g mL}^{-1}$, $0.05 \mu\text{g g}^{-1}$ and $0.023 \mu\text{g g}^{-1}$. Soil pH was 5.8. Se concentration in blood serum for different groups of ages was extremely low: Group(i) 0-2 months, $0.020 \pm 0.0023 \mu\text{g mL}^{-1}$; (ii) 3-8 months, $0.021 \pm 0.0023 \mu\text{g mL}^{-1}$; (iii) 9-18 months, $0.024 \pm 0.0022 \mu\text{g mL}^{-1}$; (iv) 19-30 months, $0.024 \pm 0.0019 \mu\text{g mL}^{-1}$; older than 30 months, $0.018 \pm 0.0016 \mu\text{g mL}^{-1}$; ($p > 0.05$). Forty five lambs from 3 to 7 d postpartum, born from Se-deficient ewe, were divided in three groups to compare the effectiveness of Se injection. Group C1: Control; C2: $0.25 \text{ mg Se kg}^{-1}$; C3: $0.5 \text{ mg Se kg}^{-1}$. The concentration of blood Se increased quickly, 20 d after beginning the treatment, 44% in C2 and 163% in C3 ($p \leq 0.01$). The application of Se (0.25 and $0.5 \text{ mg Se kg}^{-1}$) increased blood Se concentration in lambs and both doses were effective to prevent white muscle disease lesions and to improve lamb survival until weaning.

Key words: Selenium deficiency, selenium injection, mortality, sheep.

INTRODUCTION

The largest percentage of mortality in lambs occurs during the perinatal and neonatal stage, and more than half of the deaths take place during the first week of life. The losses are caused by infectious illnesses, mainly diarrheas and pneumonias, and by starvation and exposition (Pijoan, 1986). Also, due to nutritional unbalances associated to the geographical localization and the characteristics or management of the production system, including conditions of the facilities for night confinement (Pijoan, 1986; Roda *et al.*, 1999). Most of the microorganisms of the digestive and respiratory system which cause death in unweaned lambs have been identified, but the presence of an infectious

Recibido: Junio, 2003. Aprobado: Enero, 2004.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 38: 43-51. 2004.

sistema de producción, incluidas las condiciones de las instalaciones de encierro nocturno (Pijoan, 1986; Roda *et al.*, 1999). La mayor parte de los microorganismos entéricos y respiratorios que causan la muerte en los lactantes han sido identificados, pero la presencia de un agente infeccioso puede estar relacionada con una deficiencia nutricional (Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2001b). La importancia del selenio (Se) en la capacidad de respuesta inmune de los animales ha sido documentada (Rock *et al.*, 2001).

La deficiencia de Se es un problema en el continente americano, y se ha reportado en Canadá, EE.UU. y algunos países sudamericanos (Georgievskii *et al.*, 1982; McDowell, 1985; Sanson, 1990). En México, la enfermedad del músculo blanco o distrofia muscular nutricional (DMN) fue reportada en bovinos por Aluja y Adame (1977)⁵. La zona norte de México es selenífera (Strouth, 1985) y selenodeficiente del altiplano hacia las costas (Ordóñez *et al.*, 1990; Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2001b).

Se desconoce el impacto de la deficiencia de Se en la producción ovina del altiplano mexicano. Sin embargo, los veterinarios de esa región, en la mayoría de los casos, usan suplementos con Se. Los signos clínicos de la DMN son confundidos o están asociados con otras enfermedades nutricionales o parasitarias (Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2001a). Los laboratorios comerciales han intensificado la venta de Se parenteral, en premezclas o asociados con desparasitantes, pero falta soporte científico para indicar la dosis adecuada en el altiplano mexicano (Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2001b).

En este trabajo se estudió la mortalidad, signos clínicos y lesiones de corderos lactantes con deficiencia de selenio. Además se determinó el efecto de dos dosis de selenito de sodio inyectadas vía subcutánea, sobre la concentración sanguínea de Se y su relación con la mortalidad y DMN en corderos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó durante 11 meses en 2000, en cuatro regiones de los Estados de Puebla y Tlaxcala: 1) Valle (Huamantla y Xalostoc, Tlaxcala); 2) lomerío (Huamantla y Zaragoza, Tlaxcala); 3) montaña Malintzi (Ixtenco y Altamira, Tlaxcala); 4) Sierra Norte (región boscosa del Estado de Puebla). La zona de estudio está entre 19° 10' a 19° 35' N y 97° 35' a 98° 10' O. La temperatura mínima es 0 °C en las zonas altas y la máxima 15 °C. En una primera etapa se diagnosticó la enfermedad; en la segunda, se midió los niveles de Se en suelo, plantas y animales en las cuatro regiones; en la tercera se hizo un ensayo con Se por vía parenteral.

agent may be related to a nutritional deficiency (Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2001b). The importance of selenium (Se) in the capacity of immune response of the animals has been documented (Rock *et al.*, 2001).

Se deficiency is a problem in the American continent, and it has been reported in Canada, USA, and some South American countries (Georgievskii *et al.*, 1982; McDowell, 1985; Sanson, 1990). In México, the white muscle disease or nutritional muscle dystrophy (NMD) was reported in cattle by Aluja and Adame (1977). The north area in México is seleniferous (Strouth, 1985) and seleno deficient from the highland toward the coasts (Ordóñez *et al.*, 1990; Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2001b).

The impact of the (Se) deficiency on sheep production at the Mexican highland, is unknown. However, the veterinarians and of that region use supplements with Se in most of the cases. The clinical signs of the NMD are confounded or associated to other nutritional or parasitic diseases (Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2001a). Commercial laboratories have intensified the sale of parenteral Se in premixtures or associated with parasite control drugs; however, there is no scientific data for an adequate dosage to be used at the Mexican highland (Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2001b).

In this experiment mortality, clinical signs and lesions of suckling lambs subjected to Se deficiency were studied. Besides, the effect of two doses of sodium selenite injected via subcutaneous, on the blood concentration of Se and its relationship with mortality and NDM in lambs, was determined.

MATERIALS AND METHODS

The work was carried out during 11 months in 2000 at four regions in the States of Puebla and Tlaxcala: 1) Valley (Huamantla and Xalostoc, Tlaxcala); 2) lomerío (Huamantla and Zaragoza, Tlaxcala); 3) Malintzi Mountain (Ixtenco and Altamira, Tlaxcala); 4) North sierra (forest region of the State of Puebla). The study area at 19° 10' to 19° 35' N and 97° 35' to 98° 10' W. The minimum temperature is 0 °C in the high areas and the maximum is 15 °C. In a first phase the illness was diagnosed; in the second, the levels of Se in soil, plants and animals in the four regions were measured; in the third, a Se parental compound was used in a trial.

Clinical and pathologic-anatomic diagnosis of selenium deficiency

This study was carried out with lambs born during the dry season (winter) from 113 ewes showing Corriedale and Rambouillet phenotype, at the municipality of Xalostoc. Management of the sheep was secondary and the main function of the ranch was the production of vegetables.

⁵ Strouth, M. K. D. 1985. Niveles de selenio en alfalfa y sangre de vacas Holstein y correlación entre niveles de Selenio y glutatión peroxidasa. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. 45 p.

Diagnóstico clínico y anatomopatológico de la deficiencia de selenio

Se realizó con corderos nacidos en la época de sequía (invierno) de 113 hembras con fenotipo de Corriedale y Rambouillet, en el municipio de Xalostoc. El manejo de los ovinos era secundario y la principal actividad del rancho era la producción de hortalizas.

El rebaño se visitó diariamente durante las primeras horas del día y se recolectaron los corderos muertos para realizar la necropsia y la toma de muestras. De 20% de los cadáveres con lesiones sugestivas de DMN, se tomaron muestras de tejido cardíaco y esquelético que se fijaron en formalina a 10%, se incluyeron en parafina y se realizaron cortes de 6 μ , que se colorearon con hematoxilina-eosina para su examen histológico (Fawcett, 1994).

Diagnóstico de la concentración de selenio en suelo, forraje y suero sanguíneo

Los rebaños ovinos seleccionados tienen un sistema de producción extensivo y pertenecen a pequeños productores. Estaban conformados por ovinos criollos con cierto fenotipo de Suffolk, Rambouillet y Corriedale. Carecían de programas productivos y reproductivos, y diariamente pastoreaban 9 a 11 h en 3 ha de pasturas naturales de pequeñas propiedades o tierras comunales. Durante el estudio, el suplemento de alimentos (paja, grano de cebada y maíz molido) o de sal común como fuente de minerales fue esporádico. Los rebaños se dividieron en los cuatro agrosistemas de acuerdo con las características de la región: Lomerío, valle, montaña Malintzi y sierra Norte. En cada agrosistema se seleccionaron los rebaños para obtener muestras de sangre y forraje durante la época de sequía (febrero y marzo).

Las muestras de sangre, para separación del suero, fueron tomadas al azar. Se muestreó 10% de los animales si el rebaño era mayor de 100 cabezas, 20% si tenía 50 a 100 cabezas, y el total si era menor de 20 cabezas. Posteriormente las muestras se analizaron según el tipo de agrosistema y grupo de edad: a, 0-2 meses; b, 3 a 8 meses; c, 9 a 18 meses; d, 19 a 30 meses; e, más de 30 meses.

Las muestras de suelo y forraje se obtuvieron de 5 a 8 y 10 a 15 submuestras, respectivamente. Las muestras de suelo se obtuvieron de la parte media de un pozo excavado a 25 cm de profundidad y se almacenaron en bolsas de plástico. Las muestras de forraje se obtuvieron después de observar las especies consumidas (Fick *et al.*, 1979), y se almacenaron en bolsas de papel.

Inyección parenteral de selenio

Se seleccionaron al azar 45 corderos durante su primera semana de vida, y se tomaron muestras de sangre de la vena yugular con agujas y tubos Vacutainer. Los tratamientos fueron: C1) Testigo; C2) suplemento parenteral, 0.25 mg Se kg⁻¹; C3) suplemento parenteral, 0.5 mg Se kg⁻¹. Los corderos C2 y C3 fueron pesados en una báscula portátil para establecer la dosis de Se. Las muestras de sangre fueron obtenidas antes y 20 d después de la inyección de Se, utilizando el producto comercial MU-Se® (Shering-Plough, EE.UU.).

The herd was visited daily during the first hours of the day, and the dead lambs were collected to carry out the necropsy and to take samples. From 20% of dead lambs, showing NMD, suggestive lesions, samples of heart and skeletal tissues were taken, they were fixed with formalin (10%) and included in paraffin; histological tests were carried out in 6 μ cuts coloured with hematoxilina-eosina (Fawcett, 1994).

Diagnosis of the selenium concentration in soil, forage and blood serum

The selected sheep herds, have an extensive production system and belong to small producers. They had "criollo" sheep with some phenotype from Suffolk, Rambouillet and Corriedale. There were no productive and reproductive programs, and grazing was done in 3 ha of natural pastures in small properties or communal lands from 9 to 11 h. During the study, supplementation of foods (straw, barley grain, ground corn) or common salt as source of minerals was infrequent. The herds were divided in four agro systems with the characteristics of the region: lomerío, valley, Malintzi Mountain and North sierra. In each agrosystem the herds were selected to obtain samples of blood and forage during the dry season (February and March).

Blood samples, to separate the serum, were taken at random. Ten percent of the animals were sampled if the flock was larger than 100 heads, 20% if it was 50 to 100 heads, and the total if it was smaller than 20 heads. Later on, the samples were analyzed according to the agrosystem type and age group: a, 0-2 months; b, 3 to 8 months; c, 9 to 18 months; d, 19 to 30 months; e, more than 30 months.

The soil and forage samples were obtained from 5 to 8 and 10 to 15 sub samples, respectively. The soil samples were obtained from the middle section of a well dug to 25 cm of depth and stored in plastic bags. The forage samples were obtained after observing which species were consumed (Fick *et al.*, 1979) and stored in paper bags.

Parenteral injection of selenium

Forty five lambs were selected at random during their first week of age, and samples from blood from the jugular vein were taken using needles and tubes Vacutainer. Treatments were the following: C1) Control; C2) Se supplement (injected), 0.25 mg Se kg⁻¹; C3) Se supplement (injected), 0.5 mg Se kg⁻¹. The C2 and C3 lambs were weighed in a portable scale to determine the Se dose. The blood samples were obtained before and 20 d after the injection of Se, using the commercial product MU-Se®. (Shering-Plough, USA).

Laboratory analysis

The soil samples were dried and sifted through sieves <5mm and <2mm; pH was determined using a portable pH meter. The forage samples were dried at 60 °C and ground.

Before determining Se, the soil and forage samples were digested with a combination of nitric and perchloric acid. Fluorometric technique (Whetter and Ullrey, 1978) was used to determine Se at the agricultural chemistry laboratory of the FES-C, Universidad Autónoma de México.

Análisis de laboratorio

Las muestras de suelo se secaron y cernieron en mallas de <5mm y <2mm, y se determinó pH con un potenciómetro portátil. Las muestras de forraje se secaron a 60 °C y después molidas.

Antes de la determinación de Se, las muestras de suelo y forraje fueron digeridas con una combinación de ácido nítrico y perclórico. El Se se cuantificó con la técnica de fluorocitometría (Whetter y Ullrey, 1978), en el laboratorio de química agrícola de la FES-C, Universidad Nacional Autónoma de México.

Análisis estadístico

Los datos de Se en suero, forrajes y suelo y su relación con las edades de los animales, se analizaron con el procedimiento GLM, y la prueba de Tukey (SAS, 1987). Los datos de los corderos inyectados con Se y del grupo testigo, se ajustaron a una regresión exponencial para obtener el modelo; la comparación de medias se realizó con la prueba t de Student (SAS, 1987).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diagnóstico clínico y anatomopatológico de la deficiencia de selenio

Durante el estudio se recolectaron diariamente los corderos muertos. La falta de interés del productor, por considerar a los ovinos como parte productiva menor, la atención a otros negocios agrícolas y el alto índice de mortalidad en pariciones anteriores, facilitaron el estudio de la mortalidad de corderos atribuible a la DMN.

Los signos clínicos observados en los corderos fueron retraso en el crecimiento, debilidad, palidez de mucosas y muerte súbita. En la necropsia se constató edema general con ascitis, hidrotórax e hidropericardio evidentes.

En todas las necropsias de los corderos se encontraron lesiones macroscópicas características de DMN, con fascículos pálidos en el músculo estriado del diafragma y las extremidades posteriores y, particularmente, en corazón, en la base de los pilares valvulares y en el miocardio subendocárdico.

El porcentaje de mortalidad fue 62%. La edad y el peso de los corderos no se cuantificó, debido a que los animales muertos fueron mutilados durante la noche por roedores. Durante los primeros 20 d de edad de los corderos se presentó 70% de las muertes.

En el examen histopatológico del tejido muscular y el miocardio, las células musculares presentaron pérdida de su estriación característica, el citoplasma tenía aspecto hialino, hubo proliferación de núcleos musculares e invasión de macrófagos asociados a las células en degeneración. En el miocardio, las células estaban vacuoladas con núcleos picnóticos; la presencia de núcleos irregulares

Statistical analysis

The data of Se in serum, forages and soil and their relationship with the ages of the animals were analyzed using GLM, and Tukey test (SAS, 1987). The data from lambs injected with Se and those of the control group were adjusted to an exponential regression to obtain the model; mean comparison was done using t test (SAS, 1987).

RESULTS AND DISCUSSION

Clinical and pathologic anatomic diagnosis of selenium deficiency

During the study, the dead lambs were collected daily. The study of the mortality of lambs imputed to the DMN was facilitated by the lack of interest of the producer, by considering the sheep as the smaller productive part, the attention to other agricultural business and the high index of mortality in previous parturitions. The clinical signs observed in the lambs were retarded growth, weakness, pale mucous and sudden death. At the necropsy, general edema was verified with ascitis, whereas hydrothorax and hydropericardium were evident.

All the necropsies of the lambs showed macroscopic lesions characteristic of DMN with pale fascicles in the grooved muscle of the diaphragm and the hindlimbs; they were particularly visible in heart, at the base of the pillars of the valves and in the myocardium subendocardium.

The percentage of mortality was 62%. The age and the weight of the lambs were not quantified, because the dead animals were mutilated during the night by rodents. During the first 20 d of age of the lambs, 70% of the deaths occurred.

In the histopathological examination of the muscle tissue and the myocardium, the muscle cells showed loss of their characteristic striation, the cytoplasm had hyaline aspect, there was proliferation of muscle nuclei and macrophages invasion associated to the cells in degeneration. In the myocardium, the cells were vacuolated with picnotic nuclei; the presence of irregular nuclei indicated invasion of macrophages, there was slight fibrosis and fine granular deposits coloured by the haematoxylin, which suggest processes of dystrophic calcification. These histological lesions correspond to the condition of muscle dystrophy, highly characteristic of Se deficiency. Symptoms of thyroid dysfunction may only be caused with a similar lesion and it has been established that Se deficiency affects the thyroid peroxidase, and, therefore, both pathologies would be related with the deficiency of this mineral (Arthur *et al.*, 1999). There were, diarrheas, pneumonias and deaths by starvation in lower proportion than DMN, and frequently associated with it.

indicó la invasión de macrófagos, hubo ligera fibrosis y depósitos granulares finos coloreados por la hematoxilina, sugestivos de procesos de calcificación distrófica. Estas lesiones histológicas corresponden a la condición de distrofia muscular, altamente característica de la deficiencia de Se. Sólo cuadros de disfunción tiroidea pueden cursar con una lesión semejante, y se ha establecido que la deficiencia de Se afecta las peroxidasa tiroideas, por lo que ambas patologías se relacionarían con la deficiencia de este mineral (Arthur *et al.*, 1999). En menor proporción a DMN y frecuentemente asociados con ella, hubo diarreas, neumonías y muertes por inanición.

Diagnóstico de la concentración de selenio en suelo, forraje y suero sanguíneo

La concentración de Se y el pH de las muestras analizadas se muestran en el Cuadro 1. No se encontraron diferencias ($p>0.05$) en la concentración de Se en las muestras de los suelos. La concentración promedio fue $0.023 \mu\text{g g}^{-1}$. Según NRC (1983), una concentración de Se en suelo menor de $0.05 \mu\text{g g}^{-1}$ se clasifica como deficiente. Por tanto, los suelos de las cuatro regiones, durante la época de sequía, fueron altamente deficientes en Se.

La baja concentración de Se en los suelos puede agravarse asociada con otros factores. El promedio del pH en las zonas de estudio fue 5.77. El Se elemental de los suelos se encuentra como selenito, biselenito o selenato, dependiendo del pH; si el pH del suelo es neutro o ácido, el selenito, que es la presentación más abundante del elemento, no estará disponible (Rosemary, 1990). Otro factor es el origen de los suelos: la zona de estudio está situada en la cordillera neovolcánica de México (Werner, 1988), y los suelos de origen volcánico presentan bajos niveles de Se (Shamberguer, 1981).

El contenido de Se en los forrajes no fue diferente ($p>0.05$) en las regiones estudiadas; el promedio fue $0.05 \mu\text{g g}^{-1}$. Según NRC (1983), la ingestión de alimentos y forrajes con menos de $0.07 \mu\text{g Se g}^{-1}$ induce la carencia del elemento en los animales.

Diagnosis of the selenium concentrations in soil, forage and blood serum

The concentration of Se and pH of the analyzed samples are shown in the Table 1. There were no significant differences ($p>0.05$) concentration, in the soils samples. The average concentration was $0.023 \mu\text{g g}^{-1}$. According to NRC (1983), concentrations of soil Se, smaller than $0.05 \mu\text{g g}^{-1}$ are classified as deficient. Therefore, the soils of the four regions, during the dry season, were highly deficient in Se.

The low Se concentration in the soils may be aggravated when associated with other factors. The average pH in the studied areas was 5.77. Se, as an element in the soils, is found as selenite, biselenite or selenate, depending on the pH; if the soil pH is neutral or acid, the selenite, which is the most abundant Se form, will not be available (Rosemary, 1990). Another factor is the origin of the soils; the studied area is located in the neo volcanic mountain range of México (Werner, 1988) and the soils of volcanic have present low Se levels (Shamberguer, 1981).

Se content in the forages was not different ($p>0.05$) in the studied regions; the average was $0.05 \mu\text{g g}^{-1}$. According to NRC (1983), the intake of foods and forages with less than $0.07 \mu\text{g Se g}^{-1}$ induces deficiency of the element in the animals.

Previous research with soils of the studied area, have shown a high content of carbonates (Werner, 1988), phosphorous ($60-94 \mu\text{g g}^{-1}$; CIAMEC, 1985), potassium ($167-387 \mu\text{g g}^{-1}$)⁶ and even extremely poor levels of organic matter (0.041-0.074%; CIAMEC, 1985). The phosphates, sulfates, the presence of heavy metals and the acidity of the soil associate themselves to affect the biodisponibility of Se in soil and plants (Rosemary 1990; Kabata and Pendias, 1992).

The average concentration of Se in the blood serum of the sheep in the four studied regions is shown in Table 1. The concentration of Se in blood serum did not change ($p>0.05$) among the groups of age of the sheep, and the

Cuadro 1. Concentración de selenio en suelo, forrajes, suero sanguíneo, y pH del suelo en cuatro agrosistemas de la zona oriente del Estado de Tlaxcala y Sierra de Puebla.

Table 1. Concentration of selenium in soil, forages, blood serum, and soil pH at four agrosystems of the eastern area of the State of Tlaxcala and Sierra of Puebla.

| | Valle | Lomerio | M. Malintzi | Sierra Norte |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Suelo ($\mu\text{g g}^{-1}$) | 0.02 ± 0.001 | 0.024 ± 0.0013 | 0.026 ± 0.0011 | 0.022 ± 0.0014 |
| pH | 6.11 ± 1.3 | 6.15 ± 1.4 | 5.35 ± 1.8 | 5.5 ± 1.1 |
| Forrajes($\mu\text{g g}^{-1}$) | 0.046 ± 0.0031 | 0.038 ± 0.0023 | 0.07 ± 0.0023 | 0.048 ± 0.0034 |
| Suero sanguíneo ($\mu\text{g mL}^{-1}$) | 0.024 ± 0.0021 | 0.016 ± 0.0018 | 0.02 ± 0.0019 | 0.022 ± 0.0019 |

No hubo diferencias significativas ($p \geq 0.05$).

En trabajos anteriores con suelos de la zona de estudio se ha demostrado su alto contenido de carbonatos (Werner, 1988), fósforo ($60\text{-}94\ \mu\text{g g}^{-1}$; CIAMEC, 1985), potasio ($167\text{-}387\ \mu\text{g g}^{-1}$)⁶ y niveles extremadamente pobres de materia orgánica (0.041-0.074%; CIAMEC, 1985). Los fosfatos, sulfatos, la presencia de metales pesados y la acidez del suelo afectan conjuntamente la disponibilidad de Se de los suelos y plantas (Rosemary 1990; Kabata y Pendias, 1992).

En el Cuadro 1 se presenta la concentración promedio de Se en el suero sanguíneo de los ovinos en las cuatro regiones estudiadas. La concentración de Se en suero sanguíneo no varió ($p > 0.05$) entre los grupos de edad de los ovinos y el promedio fue similar ($0.02\ \mu\text{g mL}^{-1}$) por regiones y edades. Se ha señalado $0.03\ \mu\text{g mL}^{-1}$ como el nivel crítico de Se sérico (McDowell, 1985; McDowell *et al.*, 1993); por tanto, todos los ovinos presentaron una deficiencia severa. La deficiencia de Se probablemente fue causa fundamental de las pérdidas de animales jóvenes. Pero los corderos que sobreviven, quizás con menores demandas metabólicas, se adaptan a las cantidades mínimas de Se en el ecosistema hasta su vida adulta, como se refleja en las bajas concentraciones séricas del elemento. El crecimiento, desarrollo y reproducción seguramente se ven afectados. No había registro de que los ovinos adultos de los rebaños utilizados en este trabajo hubieran recibido algún suplemento.

Inyección parenteral de selenio

La administración parenteral de Se incrementó la concentración de Se en plasma (C2, $0.25\ \text{mg Se kg}^{-1}$, 44%; C3, $0.50\ \text{mg Se kg}^{-1}$, 163%; $p \leq 0.01$) 20 d después de aplicar Se (Cuadro 2). Con la mayor dosis ($0.50\ \text{mg kg}^{-1}$) se sobrepasó $0.1\ \mu\text{g Se mL}^{-1}$ de plasma, considerado el nivel óptimo del elemento (Mc Dowell *et al.*, 1993). Dosis de $0.45\ \text{mg Se kg}^{-1}$ han causado muerte súbita en ovinos (Caravaggi *et al.*, 1970), pero inyecciones de selenito de sodio con $0.4\ \text{mg Se kg}^{-1}$ (Milad *et al.*, 2001) y $0.6\ \text{mg Se kg}^{-1}$ (Allen y Mallinson 1984) incrementaron la concentración de la glutatión peroxidasa (GSH-Px) a niveles normales dos semanas después del tratamiento. En el presente estudio, ninguno de los corderos tratados, en los dos grupos, presentó muerte repentina o signos clínicos de intoxicación por Se. En el grupo con la dosis mayor, dos corderos rebasaron $0.26\ \mu\text{g mL}^{-1}$ de Se en plasma y tres corderos tuvieron $0.19\ \mu\text{g mL}^{-1}$. Quizás la dosis empleada se encuentra en el límite superior del margen de seguridad para inducir la intoxicación por Se. El nivel de seguridad de la dosis seguramente depende de la concentración pretratamiento de Se en sangre, que en el presente

average was similar ($0.02\ \mu\text{g mL}^{-1}$) by regions and ages. It has been pointed out $0.03\ \mu\text{g mL}^{-1}$ as critical level of serum Se (McDowell, 1985; McDowell *et al.*, 1993); therefore, all the sheep had a severe deficiency. The deficiency of Se was probably a fundamental cause of the losses of young animals. However, the lambs that survive, maybe with lower metabolic demands, are adapted to the minimum quantities of Se in the ecosystem until their mature life, as it is reflected in the low serum concentrations of the element. The growth, development and reproduction are surely affected. There was no record that the mature sheep used in this work had received any supplement.

Parenteral injection of selenium

The parenteral injection of Se increased concentration of Se in plasma (C2, $0.25\ \text{mg Se kg}^{-1}$, 44%; C3, $0.50\ \text{mg Se kg}^{-1}$, 163%, $p \leq 0.01$) 20 d after applying Se (Table 2). The optimum level of plasma Se ($0.1\ \mu\text{g Se mL}^{-1}$; Mc Dowell *et al.*, 1993) was exceeded when the largest dose ($0.50\ \text{mg kg}^{-1}$) was used. Dose of $0.45\ \text{mg Se kg}^{-1}$ has caused sudden death in sheep (Caravaggi *et al.*, 1970), but injections of sodium selenite with $0.4\ \text{mg Se kg}^{-1}$ (Milad *et al.*, 2001) and $0.6\ \text{mg Se kg}^{-1}$ (Allen and Mallinson, 1984) have increased the concentration of the glutathione peroxidase (GSH-Px) up to normal levels two weeks after the treatment. In our study, none of the treated lambs, in both groups, presented sudden death or clinical symptoms of Se intoxication. In the group with the largest dose, two lambs had more than $0.26\ \mu\text{g Se mL}^{-1}$ in plasma and three lambs had $0.19\ \mu\text{g mL}^{-1}$. Perhaps, the dose utilized is on the higher limit of the security margin to induce intoxication by Se. The level of security in the dosage surely depends on the

Cuadro 2. Concentraciones de selenio en plasma ($\mu\text{g mL}^{-1}$) en corderos inyectados con selenito de sodio.

Table 2. Concentration of Se in plasma ($\mu\text{g mL}^{-1}$) in lambs injected with sodium selenite.

| | C1 [¶] | C2 | C3 |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Selenio, $\mu\text{g mL}^{-1}$: | | | |
| Antes de la inyección | 0.029 ± 0.013 | 0.026 ± 0.015 | 0.027 ± 0.008 |
| 20 días después de la inyección | 0.025 ± 0.009 | 0.057 ± 0.021 | 0.153 ± 0.074 |
| Mortalidad (%), 20 d después) | 53 | 13 | 20 |

[¶] C1 = testigo; C2 = $0.25\ \text{mg Se kg}^{-1}$; C3 = $0.5\ \text{mg Se kg}^{-1}$.

Valores con diferente letra en una hilera, son diferentes ($p \leq 0.01$).

⁶ Velasco R. N., 1992. Cuantificación del status mineral en un sistema de producción extensivo (caprino) en el municipio de Huamantla, Tlaxcala. Tesis profesional. Universidad Autónoma de Tlaxcala 60 p.

estudio fue menor a los niveles críticos, de la biodisponibilidad del producto; y de la absorción y retención de Se en los tejidos (Koering *et al.*, 1997) principalmente en hígado, en particular en animales con deficiencia evidente de Se (McDowell *et al.*, 2002).

La dosis recomendada de los productos comerciales de Se es 0.03 a 0.05 mg Se kg⁻¹, pero en un trabajo previo realizado con cabritos en la zona de estudio, dicha dosis fue insuficiente para detener las muertes por DMN e incrementar la concentración de selenio en sangre. Además, no hay respuesta al tratamiento parenteral con selenito de sodio para normalizar los niveles de Se en sangre (Ulrey, 1992; McDowell *et al.*, 2002). Por tanto, la elección de la dosis para los corderos depende de la biodisponibilidad del producto y de la severidad de la deficiencia en los animales.

Para confirmar la deficiencia de Se, además de su determinación en sangre, se utilizan pruebas enzimáticas que la demuestran en forma indirecta. También se usa la concentración de glutatión peroxidasa (GSH-Px), una enzima que incorpora Se en su estructura molecular, o el incremento de aspartato amino transferasa, creatinina kinasa (El-Newehy *et al.*, 2001; Sobiech y Kuleta, 2002), lactato deshidrogenasa y lactato deshidrogenasa-fracción muscular (Sobiech y Kuleta, 2002). Estas enzimas indican la presencia de lesión muscular, aunque la lesión no necesariamente sea consecuencia de la deficiencia de Se. El diagnóstico más adecuado y específico, en consecuencia, es la determinación de la concentración de Se y GSH-Px en sangre.

Andrés *et al.* (1996) emplearon 0.080 y 0.160 mg Se kg⁻¹ en corderos lactantes, cuyo nivel de GSH-Px antes de dar el suplemento, no indicaba deficiencia severa de Se (40 UI g⁻¹ Hb, Sobiech y Kuleta, 2002). El incremento de la GSH-Px en sangre, 19 d después de aplicar Se, fue significativo con ambas dosis (285 y 312%) y se previno la presentación de DMN. En el presente trabajo, la respuesta fue similar, pero la dosis más alta fue tres veces mayor que la utilizada por Andrés *et al.* (1996).

La concentración previa a la dosificación y la demostrada 20 d después, en el grupo testigo no tratado (0.02 µg Se mL⁻¹ en suero sanguíneo), equivale a una concentración de 13.75 UI g⁻¹ Hb de GSH-Px. Este nivel refleja selenodeficiencia o hipoperoxidasemia, indicando la condición subclínica de la DMN (Sobiech y Kuleta, 2002). Las concentraciones obtenidas después de dar el suplemento, se ajustaron a una distribución exponencial, con el siguiente modelo:

$$\text{Se } (\mu\text{g mL}^{-1}) \text{ en plasma} = 0.0254e^{3.24771} * \text{dosis mg Se kg}^{-1}, \\ R^2 = 0.66$$

Con este modelo se expresa la concentración inmediata de Se en plasma para mantener un nivel adecuado

pre-treatment concentration of Se in blood, which in our study was lower than the critical levels; the biodisponibility of the product; the absorption and retention of Se in the tissues (Koering *et al.*, 1997) mainly in liver, specially in animals with evident Se deficiency (McDowell *et al.*, 2002).

The recommended dose of the commercial products of Se is 0.03-0.05 mg Se kg⁻¹, but in a previous work carried out with kids in the studied area, this dose was insufficient to stop deaths by DMN and to increase the selenium concentration in blood. Also, there is not response to injection treatment using sodium selenite to normalize the levels of blood Se (Ulrey, 1992; McDowell *et al.*, 2002). Therefore, the selection of the dose for lambs is dependent upon the biodisponibility of the product and the severity of the deficiency in animals.

Besides determining Se in blood, enzymatic tests are an indirect way to confirm the deficiency of Se. The concentration of glutathione peroxidase (GSH-Px), an enzyme that incorporates Se in its molecular structure, or the increment of aspartate amino transfer, creatine kinase (The-Newehy *et al.*, 2001; Sobiech and Kuleta, 2002), lactate dehydrogenase and lactate muscular dehydrogenase-fraction (Sobiech and Kuleta, 2002), are also utilized. These enzymes indicate the presence of muscle lesion, although the lesion may not necessarily be a consequence of Se deficiency. Consequently, the most appropriate and specific diagnosis is determining the concentration of Se and GSH-Px in blood.

Andrés *et al.* (1996) used 0.080 and 0.160 mg Se kg⁻¹ in unweaned lambs whose level of GSH-Px before supplementation, did not show severe deficiency of Se (40 UI g⁻¹ Hb; Sobiech and Kuleta, 2002). The increment of the GSH-Px in blood was significant with both doses (285 and 312%) and the presentation of DMN was prevented. In our work, the response was similar, but the highest dose was three times higher than that used by Andrés *et al.* (1996).

The concentration previous to the dosage and the one shown 20 d later, in the non-treated control group (0.02 µg Se mL⁻¹ in blood serum), is equivalent to a concentration of 13.75 UI g⁻¹ Hb of GSH-Px. This level reflects selenodeficiency or peroxidase deficiency, indicating the sub-clinic condition of NDM (Sobiech and Kuleta, 2002). The concentrations obtained after suplementación were adjusted to an exponential distribution, with the following model:

$$\text{Se } (\mu\text{g mL}^{-1}) \text{ in plasma} = 0.0254e^{3.24771} * \text{dose mg Se Kg}^{-1} \quad R^2 = 0.66$$

With this model it is expressed the immediate concentration of Se in plasma to maintain an appropriate level of the element (0.1 µg mL⁻¹) and to avoid NMD. The low dose (0.05 mg Se kg⁻¹), as sodium selenite, has been insufficient to stop the mortality caused by NMD.

del elemento ($0.1 \mu\text{g mL}^{-1}$) y evitar la DMN. La dosis baja ($0.05 \text{ mg Se kg}^{-1}$), como selenito de sodio, ha sido insuficiente para detener la mortalidad ocasionada por la DMN. Dosis de 0.25 a $0.3 \text{ mg Se kg}^{-1}$ como selenito de sodio, pueden detener la mortalidad (Milad *et al.*, 2001) y evitar los demás efectos de la carencia de Se, en los corderos de esta zona con deficiencia endémica.

CONCLUSIÓN

En el altiplano de México hay deficiencia de Se. Un pH ácido en el suelo dificulta la biodisponibilidad del elemento para plantas y animales. En esa región es necesario usar un suplemento parenteral de Se ($0.25 \text{ mg Se kg}^{-1}$ a $0.5 \text{ mg Se kg}^{-1}$) para prevenir la distrofia muscular nutricional y la mortalidad en los corderos.

LITERATURA CITADA

Aluja, A. S., y P. Adame. 1977. Miopatía degenerativa en becerros. *Vet. Méx.* 8: 2-14.

Allen, W. M., and C. B. Mallinson. 1984. Parenteral methods of supplementation with copper and selenium. *Vet. Rec.* 114: 451-454.

Andrés, S., M. C. Mane, J. Sánchez, R. Barrera, and A. Jiménez. 1996. Changes in GSHPx and muscle enzyme activities in lambs with nutritional myodegeneration following a single treatment with sodium selenite. *Small Rumin. Res.* 23: 183-186.

Arthur, J. R., J. B. Geoffrey, and Mitchell, J. H. 1999. The interactions between selenium and iodine deficiencies in man and animals. *Nutr. Res. Rev.* 12: 55-73.

Caravaggi, C. F. L. Clark, and A. R. Jackson. 1970. Parenteral methods of supplementation selenium. *Res. Vet. Sci.* 11: 146-149.

CIAMEC. 1985. Análisis físico-químico de los suelos de la región de Huamantla Tlaxcala. pp: 35-45.

El-Newehy, T. K., H. A. Abdel-Rahman, and A. A. Al-Qarawi. 2001. Some studies on nutritional muscular dystrophy in Qassim region in Saudi Arabia. Effect of administration of vitamin E-selenium preparation to pregnant ewes on serum muscle-specific enzymes in their lambs. *Small Rumin. Res.* 41: 87-89.

Fawcett, D. W. 1994. *A Textbook of Histology*. Ed. Chapman & Hall, New York. 964 p.

Fick, K. J., L. R. McDowell, P. H. Miles, J. D. Funk, and J. H. Conrad. 1979. *Methods of Mineral Analysis for Plant and Animal Tissues*, 3rd Edition. University of Florida, Gainesville, FL, USA. pp: 101-130.

Georgievskii, V. I., B. N. Annenkov, and V. T. Samokhin. 1982. *Mineral Nutrition of Animals. Studies in the Agricultural and Food Sci.* Butterworths, London. 353 p.

Kabata-Pendias, A., and H. Pendias. 1992. *Trace Elements in Soils and Plants*. CRC Boca Raton, Ann Arbor, London. pp: 78-226.

Koering, K. M., L. M. Rode, R. D. H. Cohen, and W. T. Buckley. 1997. Effects of diet and chemical form of selenium on selenium metabolism in sheep. *J. Anim. Sci.* 75: 817-827.

McDowell, L. R. 1985. *Nutrition of Grazing Ruminants in Warm Climates. Animal Feeding and Nutrition*. Academic Press Inc. London. pp: 259-287.

McDowell, L. R., J. H. Conrad, F. G. Hembry, R. Valle, y J. Velásquez. 1993. *Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales. Segunda Edición*. Departamento de Zootecnia Universidad de Florida, Gainesville. pp: 76.

McDowell, L. R., G. Valle, L. Cristadi, P. A. Davis, O. Rosendo, and N. S. Wilkinson. 2002. Selenium availability and methods of

Dose of 0.25 to $0.3 \text{ mg Se kg}^{-1}$, as sodium selenite, may stop the mortality (Milad *et al.*, 2001) and avoid additional effects due to the lack of Se in lambs of this area with endemic deficiency.

CONCLUSIONS

In highland of México there is deficiency of Se. An acid pH in soil hinders the biodisponibility of the element for plants and animals. In that region, supplementation of parenteral Se ($0.25 \text{ mg Se kg}^{-1}$ to $0.5 \text{ mg Se kg}^{-1}$) is needed, in order to prevent nutritional muscle dystrophy and mortality in the lambs.

—End of the English version—



selenium supplementation for grazing ruminants. *Proc. 13th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium*. Department of Animal Science, University of Florida, Gainesville. pp: 86-101.

Milad, K., O. Rác, A. Sipulová, V. Bajová, and G. Kovác. 2001. Effect of vitamin E and selenium on blood glutathione peroxidase activity and some immunological in sheep. *Vet. Med. Czech.* 46: 1-5.

NRC (National Research Council). 1983. *Selenium in Nutrition*. Subcommittee on Selenium, Committee on Animal Nutrition, Board of Agriculture, National Research Council, Washington, D.C., 174 p.

Ordóñez, R. J. A., O. V. Velásquez, y M. R. Rosiles. 1990. Niveles de Se, Cu y Co en suelo y forraje y su importancia sobre los problemas de deficiencia en corderos alimentados bajo condiciones de pastoreo en San Felipe del Progreso, Estado de México. *In: Memorias del III Congreso Nacional de Producción Ovina*. Tlaxcala, Méx. pp: 92-95.

Pijoan, A. P. 1986. Mortalidad perinatal y neonatal. *In: Principales Enfermedades de los Ovinos y Caprinos*. Pijoan, A. P. y J. L. Tórtora (eds.). México. pp: 205-219.

Ramírez-Bribiesca, J. E., J. L. Tórtora, L. M. Hernández, and M. Huerta. 2001a. Main causes of mortalities in dairy goat kids from the Mexican plateau. *Small Rumin. Res.* 41: 77-80.

Ramírez-Bribiesca, J. E., J. L. Tórtora, A. Aguirre, and L. M. Hernández. 2001b. Diagnosis of selenium status in grazing dairy goats on the Mexican Plateau. *Small Rumin. Res.* 41: 81-85.

Rock, M. J., R. L. Kincaid, and G. E. Carstens. 2001. Effects of prenatal source and level of dietary selenium on passive immunity and thermometabolism of newborn lambs. *Small Rumin. Res.* 40: 129-138.

Roda, D. S., L. E. Santos, E. A. Cunh, M. S. Bueno, I. P. Otsuk, L. E. DosSantos, and E. A. Da-Cunha. 1999. Producción de corderos Suffolk con dos sistemas de apareamiento. *Ciencia Rural* 29: 159-163.

Rosemary, H. N. 1990. Selenium. *In: Heavy Metals in Soils*. Alloway, B. J. (ed.). Blackie, Glasgow and London. pp: 237-260.

Sanson, R. L. 1990. Selenium supplementation of sheep by topdressing pastures under high rainfall conditions. *New Zealand Vet. J.* 38: 1-3.

SAS. 1987. *User's Guide. System Analysis Statistical*. Institute Inc. Raleigh, North Carolina, USA. 280 p.

Shamberguer, J. R. 1981. *Biochemistry of Selenium*. Plenum Press. New York and London.

Sobiech, P., and Z. Kuleta. 2002. Usefulness of some biochemical indicators in detection of early stages of nutritional muscular dystrophy in lambs. *Small Rumin. Res.* 45: 209-215.

- Ullrey, D. E. 1992. Basis for regulation of selenium supplements in animal diets. *J. Anim. Sci.* 70: 3922-3927.
- Werner, G. 1988. Los suelos en el Estado de Tlaxcala. Gobierno del Estado de Tlaxcala. Universidad Autónoma de Tlaxcala. 198 p.
- Whetter, P. A., and D. E. Ullrey. 1978. Improved fluorometric method for determining selenium. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 61: 927-930.