



## Balance metabólico nutricional de selenio en ovinos a pastoreo en la IX Región de la Araucanía, Chile

ARTÍCULO DE  
INVESTIGACIÓN

Alejandro Ceballos-Márquez<sup>1</sup>, Fernando Wittwer<sup>2</sup>, Marcela Andaur<sup>3</sup>, Helga Böhmwald<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Sistemas de Producción, Universidad de Caldas. Manizales, Colombia.

<sup>2</sup>Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias. Universidad Austral de Chile. Casilla 567. Valdivia, Chile.

<sup>3</sup>Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Católica de Temuco. Casilla 15 - D. Temuco, Chile.

aceballos@groupwise.upei.ca

(Recibido: 10 abril, 2007; aprobado: 2 junio, 2007)

**RESUMEN:** Con el objeto de evaluar el balance metabólico nutricional de selenio en ovinos mantenidos en pastoreo en la IX Región, Chile (38° LS y 72° LO), se tomaron durante las épocas de invierno (gestación) y primavera (lactancia) muestras de sangre heparinizada en dos grupos de 7 ovejas cada uno. Se analizó la actividad sanguínea de glutatión peroxidasa (GSH-Px; EC 1.11.1.9) mediante un método cinético compuesto NADPH-dependiente. Se obtuvo el promedio y la desviación estándar, las comparaciones entre grupos se realizaron mediante una prueba de "t". La actividad promedio de GSH-Px fue 158±60 U/g Hb, y no se encontraron diferencias entre los grupos (P>0,05). En las ovejas gestantes se encontró un grupo (20%) con un valor promedio bajo (< 60 U/g Hb), mientras que en las ovejas lactantes no se encontraron valores bajos, sino un grupo (20%) con un valor marginal (< 130 U/g Hb) de acuerdo al ciclo productivo del ovino para la IX Región, Chile. En consideración con los resultados anteriores, en la IX Región, Chile, se presentan desequilibrios metabólico-nutricionales de selenio en ovinos mantenidos en pastoreo, siendo más afectadas las ovejas que se encuentran en gestación.

**Palabras clave:** antioxidantes, desequilibrio metabólico, glutatión peroxidasa, minerales, ovejas.

## Nutritional metabolic balance of selenium in grazing ovines from IX Region of Araucanía, Chile

**ABSTRACT:** With the objective of evaluating the nutritional metabolic balance of selenium in grazing sheep, heparinized blood samples were taken during winter and spring seasons in 2 groups of 7 ewes each (prior to lambing and after lambing) located at the IX Region of Araucanía, Chile (38° LS y 72° LW). A compounded NADPH-dependent kinetic method was used to analyse the GSH-Px activity in blood. The mean and standard deviation of the obtained values were calculated, and the "t" test was used to compare the results between groups. The blood activity of GSH-Px was 158 ± 60 U/g Hb, and was similar between groups (P>0,05). Within the group of ewes prior to breeding, 20% exhibited low values (< 60 U/g Hb) of GSH-Px blood activity, while the lactating ewes group didn't present low values, but 20% did show a marginal value (< 130 U/g Hb), according to the productive cycle of sheep in the IX Region, Chile. These results suggest that there are metabolic imbalances of selenium in grazing sheep in Southern Chile, being the gestating ewes the most affected.

**Key words:** antioxidants, metabolic unbalance, glutathione peroxidase, minerals, sheep.

## Introducción

El oxígeno (O<sub>2</sub>) es el segundo elemento más abundante en la atmósfera (21%), el que se forma a partir de la liberación hecha por algas verde-azules al desdoblarse el agua para obtener los átomos de hidrógeno esenciales para su crecimiento. Este elemento ha sido clasificado como un radical libre (RL) y su incorporación en una molécula orgánica produce una oxidación (Gutteridge & Halliwell, 1994). Los RL son estructuras moleculares de existencia libre en el organismo y contienen uno o más electrones impares girando alrededor de su núcleo, lo que les confiere una alta inestabilidad y una gran capacidad de reacción con otras moléculas no radicales (Barquinero, 1992; Gutteridge & Halliwell, 1994).

En forma paralela, y como un mecanismo para hacer frente a los procesos oxidativos, se han desarrollado eficientes mecanismos antioxidantes, lo que permite no sólo sobrevivir sino emplear el O<sub>2</sub> para la producción de energía y en reacciones metabólicas de oxidación. Los antioxidantes son cualquier sustancia que retarde o inhiba el daño oxidativo a una molécula susceptible (Gutteridge & Halliwell, 1994).

En algunas ocasiones la capacidad antioxidante (CA) es superada, desbordando una acción oxidativa debido al aumento en la formación de RL a partir del O<sub>2</sub>; así, la mayor producción de prooxidantes genera un fenómeno conocido como estrés oxidativo, quedando cualquier estructura orgánica vulnerable a la acción oxidativa (Miller et al., 1993).

La glutatión peroxidasa (GSH-Px; EC 1.11.1.9) es una metaloenzima que forma parte del sistema glutatión, señalado como el principal sistema antioxidante del organismo. Su estructura está conformada por cuatro subunidades de 22.000 daltons cada una, donde cada subunidad contiene un residuo de selenio (Se) en forma de selenocisteína (Burk & Hill, 1993). Lo anterior permite que la determinación de la actividad enzimática sea un indicador confiable del balance metabólico nutricional de este mineral (Rotruck et al., 1973).

La actividad disminuida de GSH-Px, por causa de una deficiencia nutricional de Se, deja las células expuestas a la acción nociva de los RL, lo que produce alteraciones en la estructura de los lípidos, proteínas, polisacáridos, DNA y otras macromoléculas celulares (Miller et al., 1993). El estrés oxidativo en ovinos se ha asociado con la presentación de la enfermedad del músculo blanco (Hartley & Grant, 1961; Andrés et al., 1996), anemia hemolítica (Suttle et al., 1987), retraso en el desarrollo, depresión del sistema inmune (Kolb et al., 1997) y signos de deficiencia subclínica (Langlands et al., 1991; Cloete et al., 1994).

En el sur de Chile se ha reportado la presencia de desbalances nutricionales de Se en bovinos a pastoreo (Ceballos et al., 1998); así mismo, se ha señalado en ovinos de la zona central la presencia de degeneraciones musculares asociadas con una deficiencia de Se (Crempien, 1990).

En consideración con lo anterior, este trabajo tiene por objeto conocer, caracterizar y evaluar en dos épocas del año, el balance metabólico nutricional de Se en ovinos de diferentes grupos productivos de explotaciones de la IX Región, Chile.

## Materiales y Métodos

En la IX Región de la Araucanía, Chile (38° LS y 72° LO), se seleccionaron cinco rebaños ovinos según su sistema de alimentación, que estuviera basado sólo en el uso de pradera naturalizada y que no estuviera realizando suplementación con Se adicional al consumido en la pradera.

Los predios estaban localizados en las zonas agroecológicas denominadas Valle Central y Precordillera Andina, las cuales se caracterizan por poseer un clima templado lluvioso con cambios influenciados por el mar y la altitud. En el Valle Central, la pluviosidad anual es 1.300 mm aproximadamente; la estación húmeda comienza en abril y finaliza en octubre, mientras que de noviembre a marzo se presenta la estación seca.

La temperatura promedio para la estación húmeda es 7°C y para la época seca es 17°C (Rouanet et al., 1988).

La topografía del Valle Central es plana con pendientes simples a onduladas, mientras que la Precordillera Andina presenta mayor heterogeneidad. El tipo de suelo predominante es el trumao. Las áreas destinadas a las explotaciones ovinas presentaban praderas naturales con una producción forrajera estacional, alcanzándose la mayor producción en los meses de primavera e inicio de verano (Rouanet et al., 1988). Los pastos predominantes eran el pasto miel (*Holcus lanatus*), pasto oloroso (*Anthoxanthum odoratum*), pasto cebolla (*Arrenatherum elatius*) y chépica (*Agrostis* sp.), entre otras especies. En menor porcentaje, y especialmente en el Valle Central, se encontraba el pasto ovillo (*Dactylis glomerata*), ballica (*Lolium* sp.) y trébol (*Trifolium* sp.). La utilización de la pradera era con pastoreo directo.

El sistema de producción ovina corresponde a un modelo extensivo estacional con el mayor número de partos concentrado en los meses de junio a agosto, con una alimentación basada en el pastoreo directo. En ninguno de los predios estudiados se emplearon suplementos en la alimentación ovina, y tampoco se realizó suplementación mineral.

Empleando el sistema de tubos al vacío, en 7 ovejas de cada rebaño se obtuvieron 5 ml de sangre heparinizada mediante venopunción yugular. Las muestras fueron recolectadas en dos oportunidades según el ciclo productivo para el ovino en la IX Región, una de ellas correspondiente al período de invierno, tiempo en el que las ovejas se encontraban en la mitad de la gestación, y la otra correspondiente a la primavera, época en la cual ellas estaban en el período de lactancia. Las muestras se remitieron dentro de las primeras 24 horas al Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria de la Universidad Austral de Chile.

Se determinó la concentración de hemoglobina mediante el método de la cianometahemoglobina

(Jain, 1986). Posteriormente se preparó 1 ml de un hemolizado de la muestra de sangre, conservándolo a -25°C en envases plásticos debidamente identificados hasta su posterior análisis. La actividad sanguínea de GSH-Px se analizó mediante la utilización de un reactivo comercial (Ransel<sup>®</sup>. Laboratorios Randox, Crumlin, Irlanda del Norte) basado en una técnica cinética NADPH-dependiente (Jaramillo, 2005). Los resultados se expresan en unidades por gramo de hemoglobina (U/g Hb).

Según el balance nutricional de Se, los resultados se presentan mediante estadística descriptiva (rango, promedio, desviación estándar e intervalo de confianza) y distribución de frecuencias de grupos con valores de actividad de GSH-Px. Se considera baja (deficiente) una actividad de GSH-Px inferior a 60 U/g Hb; bajo/marginal, los valores entre 61 y 100 U/g Hb; marginal, los valores entre 101 y 130 U/g Hb; y adecuada, una actividad superior a 130 U/g Hb (Jaramillo, 2005).

Además, previa comprobación del tipo de distribución de los datos mediante una prueba de Kolmogorov-Smirnov, se realizaron las comparaciones entre grupos mediante una prueba de "t" fijándose un nivel de significancia  $P < 0,05$ . Para los análisis se utilizó el programa GraphPad Prism V. 2.01 (GraphPad Software, 1996).

## Resultados y Discusión

El promedio y la desviación estándar para la actividad de GSH-Px en los grupos fue de  $158 \pm 60$  U/g Hb, con un rango entre 38 y 328 U/g Hb. Se encontraron los valores más bajos en las ovejas en gestación (período de invierno), y no se observaron diferencias estadísticas ( $P > 0,05$ ) entre los grupos (Tabla 1). En las ovejas gestantes (período de invierno) se encontró el mayor número de individuos con valores bajos y bajos/marginales para la actividad de GSH-Px, mientras que en las ovejas en lactancia se observaron sólo algunos individuos con valores de actividad enzimática marginales.

En el rebaño 3 se encontró, en el período de gestación, un valor promedio bajo, mientras que en el rebaño 1 se observó en el grupo de ovejas lactantes valores promedio marginales (Tabla 1).

Únicamente en las ovejas gestantes (período de invierno) se observó un grupo con valores promedio para la actividad de GSH-Px bajo 60 U/g Hb, mientras que en la lactancia no se encontraron grupos con valores bajos, pues sólo se observó un grupo con un valor marginal (Figura 2).

La actividad sanguínea de GSH-Px observada para ambos grupos estudiados es en promedio mayor a 60 U/g Hb (Tabla 1), valor señalado como indicador de un desequilibrio metabólico nutricional de Se (Ceballos & Wittwer, 1996). No obstante, se observó un grupo de animales en el período de invierno (gestación) con una actividad enzimática promedio inferior a 60 U/g Hb (Figura 1). Resultados similares a los señalados en el presente estudio han sido reportados en el sur de Chile, pues se observa una actividad enzimática promedio de  $99 \pm 38$  U/g Hb para ovejas adultas mantenidas en pastoreo, mientras que en los corderos se encontró una actividad de  $102 \pm 30$  U/g Hb, valores que son superiores al considerado como indicador de una deficiencia de Se (Rupprechter et al., 1998).

Pese a encontrarse algunos individuos con valores inferiores a 60 U/g Hb, éstos no presentaban signos clínicos de una deficiencia de Se. Además, para los grupos estudiados la actividad de GSH-Px fue superior a 44 U/g Hb, valor que ha sido reportado en ovinos afectados por miodistrofia nutricional (Andrés et al., 1996).

Los grupos analizados en el presente trabajo están mantenidos bajo condiciones de pastoreo extensivo y se caracterizan por una baja productividad, lo que hace que las necesidades nutricionales sean inferiores que las de animales de mayor producción, ya que el requerimiento de minerales es altamente dependiente del nivel productivo (McDowell et al., 1997). Por lo anterior, una actividad de GSH-Px adecuada estaría indicando que el consumo es suficiente para satisfacer los requerimientos nutricionales de Se según los diferentes estados fisiológicos considerados en este estudio (Ceballos et al., 1998).

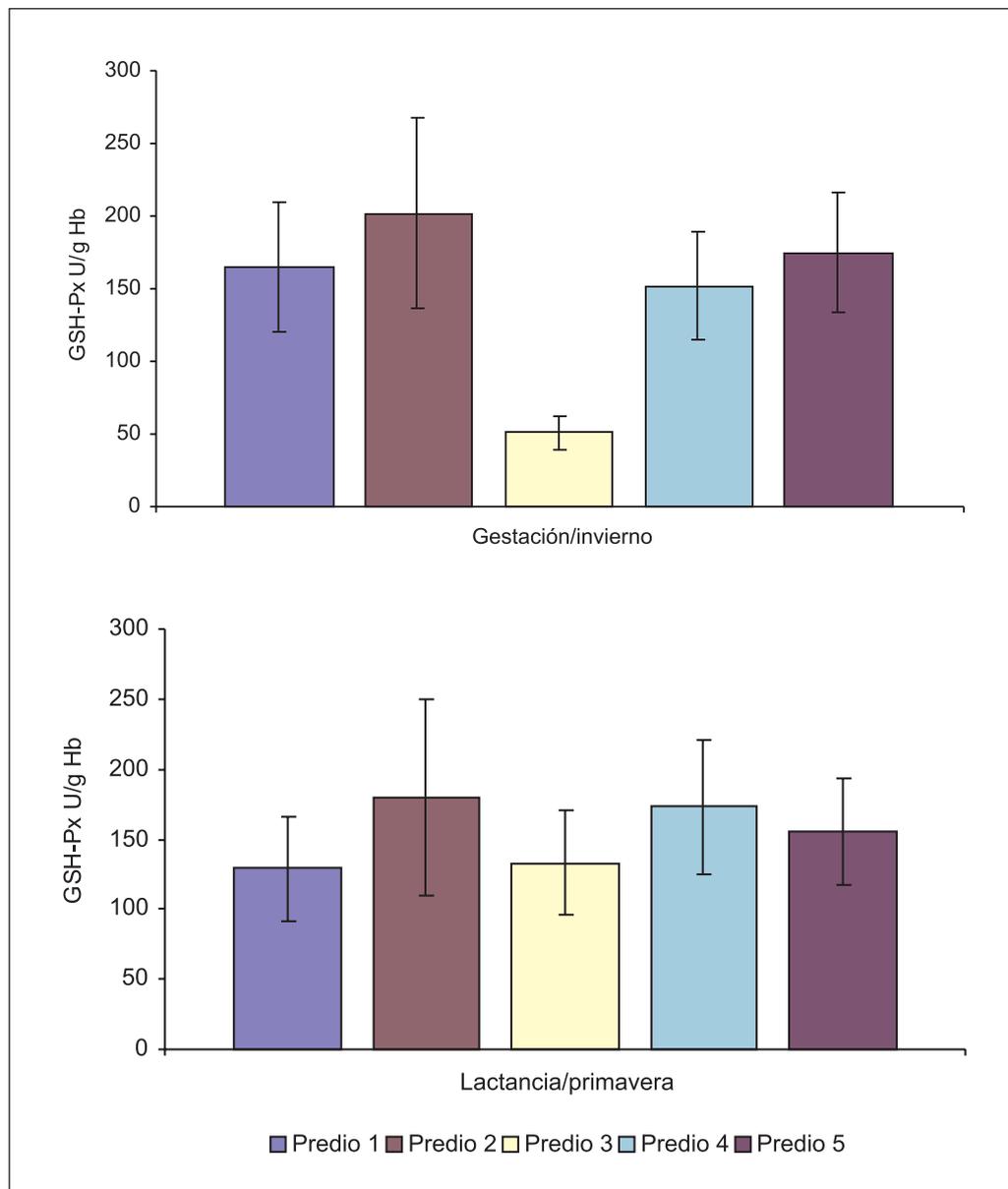
Además, en otros reportes se ha señalado que el contenido de Se en los forrajes es levemente mayor hacia finales del verano (Cloete et al., 1994), lo que provocaría un aumento en la actividad sanguínea de GSH-Px en el período otoño-invierno, ya que la actividad de la enzima en sangre aumenta después de la incorporación del Se en la estructura proteica de la enzima durante la eritropoyesis (Ceballos & Wittwer, 1996).

**Tabla 1.** Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa (Rango,  $x \pm DE$ , intervalo de confianza) en ovejas a pastoreo en diferentes estados productivos en la IX Región, Chile.

| Estado productivo            | ACTIVIDAD DE GSH-Px<br>(U/g Hb) |              |           |
|------------------------------|---------------------------------|--------------|-----------|
|                              | Rango                           | $x \pm DE^*$ | IC        |
| Preparto - invierno (n=50)   | 38 - 328                        | $158 \pm 66$ | 139 - 177 |
| Postparto - primavera (n=41) | 52 - 289                        | $158 \pm 53$ | 141 - 175 |

IC: Intervalo de confianza (95%).

\*Entre grupos ( $P > 0,05$ ).

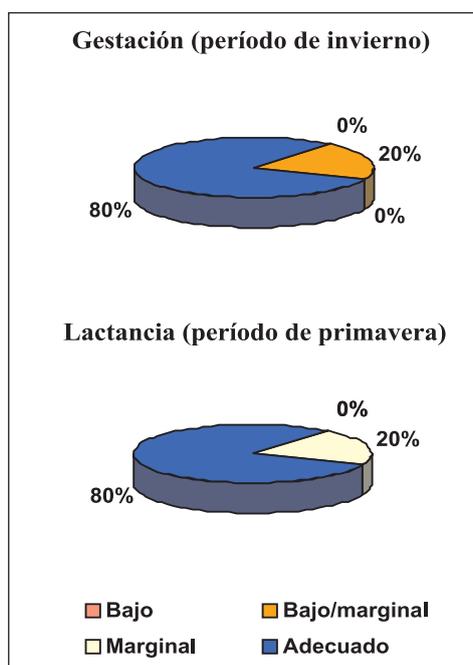


**Figura 1.** Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa en grupos de ovinos de dos categorías productivas en cinco rebaños de la IX Región, Chile. Cada columna corresponde al  $x \pm DE$  ( $n = 7$ ).

En las ovejas gestantes (período de invierno) se observó sólo un grupo con una actividad enzimática promedio inferior a 60 U/g Hb (Figura 1), y no se encontraron grupos con deficiencias marginales, mientras que en las ovejas lactantes (período de primavera) se encontró un grupo con valores marginales, y no se hallaron valores promedio inferiores a 60 U/g Hb (Figura 2).

El final de la gestación y el inicio de la lactancia imponen una mayor necesidad nutricional para

satisfacer la demanda ocasionada por el egreso producido por el crecimiento fetal y la producción de leche (Mason, 1985; Jarrige, 1988). Por lo tanto, al aumentar los requerimientos, el consumo de Se a partir de la pradera fue insuficiente para cubrir la demanda en el grupo de ovejas en gestación; además, cabe señalar que estos períodos de mayor demanda coinciden con épocas de bajo crecimiento del forraje (período de invierno) según el ciclo productivo imperante en la IX Región, Chile.



**Figura 2.** Frecuencia de ovejas gestantes y en el inicio de la lactancia con actividad sanguínea de GSH-Px menor a 60 U/g Hb en cinco rebaños ovinos de la IX Región, Chile.

Igualmente, en el inicio de la primavera hay un mayor crecimiento del forraje, lo que guarda relación inversa con la concentración de Se en la pradera y contribuye a disminuir el aporte del mineral en la ración durante una época de mayor demanda nutricional para la oveja (Jarrige, 1988; Ceballos et al., 1998). También en la primavera hay un aumento en el contenido de ciertos nutrientes que imponen una necesidad mayor de antioxidantes (Jaramillo, 2005).

Debe considerarse que, aparte del efecto que se produce por el estado fisiológico, puede haber un efecto estacional, que por las características del diseño de este estudio no debe descartarse. Corroborando lo anterior, se ha señalado que cualquier variación estacional que se presente en la actividad de GSH-Px guarda relación con los cambios en el contenido de Se en el forraje (Ceballos et al., 1998).

### Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos y bajo las condiciones de este estudio, es posible

señalar que en la IX Región, Chile, se presentan desequilibrios nutricionales de Se en ovinos mantenidos en pastoreo, y que, además, la mayor frecuencia de animales con valores marginales se presenta durante el postparto, lo que coincide con la estación primavera, acorde al sistema de manejo productivo de la zona.

### Referencias Bibliográficas

- Andrés, S.; Mañe, M.C.; Sánchez, J. et al. Changes in GSH-Px and muscle enzyme activities in lambs with nutritional myodegeneration following a single treatment with sodium selenite. **Small Animal Research**. v.23, p.183-186, 1996.
- Barquinero, J. Un ejército de radicales libres en acción. In: Crystal, R.G.; Ramon, J.R. Glutación: eje de la defensa antioxidante. **Excerpta Medica Medical Communications**. B.V. Amsterdam, 1992.
- Burk, R.F.; Hill, K.E. Regulation of selenoproteins. **Annual Reviews Nutrition**. v.13, p.65-81, 1993.

- Jaramillo, S.; Villa, N.A.; Pineda, A.F.; et al. Blood activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in grazing dairy heifers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.40, p.1115-1121, 2005.
- Ceballos, A.; Wittwer, F.G. Metabolismo del selenio en rumiantes. **Archivos de Medicina Veterinaria**. v.28, p.5-18, 1996.
- Ceballos, A.; Wittwer, F.; Contreras, P.A. et al. Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa en rebaños lecheros a pastoreo: variación según edad y época del año. **Archivos de Medicina Veterinaria**. v.30, p.13-22, 1998.
- Cloete, S.W.P.; Van-Niekerk, F.E.; Kritzinger, N.M. et al. Production responses of sheep supplemented with copper, cobalt and selenium on kikuyu ryegrass pastures. **Journal of the South African Veterinary Association**. v.65, p.52-58, 1994.
- Crempien, C. Deficiencia de selenio en corderos. **Agronegocios**. p.45-46, 1990.
- Graphpad Software. 1996. GraphPad Prism® V. 2.01. GraphPad Software, Inc.
- Gutteridge, J.M.C.; Halliwell, B. Antioxidants in nutrition, health, and disease. **Oxford University Press**. Oxford, 1994.
- Jain, N.C. Schalm's Veterinary hematology. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: **Lea & Febiger**, 1986. 1221p.
- Hartley, W.J.; Grant, B. A review of selenium responsive diseases of New Zealand livestock. **Federation Proceedings**. v.20, p.679-688, 1961.
- Jarrige, R. Alimentation des bovins, ovins et caprins. **INRA**. Paris, 1988.
- Kolb, E.; Kaskous, S.; Seehawer, J. Ernährungsbiochemische Aspekte der Bedeutung, der Verwertung, des Stoffwechsels und der Anwendung von Vitamin E und von Selen beim Schaf. **Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.** v.110, p.178-184, 1997.
- Langlands, J.P.; Donald, G.E.; Bowles, J.E. et al. Subclinical selenium insufficiency. 1. Selenium status and the response in liveweight and wool production of grazing ewes supplemented with selenium. **Australian Journal of Experimental Agriculture**. v.31, p.25-31, 1991.
- Mason, B.D. **Nutrition guide for B.C. sheep producers**. Ministry of Agriculture and Food, Province of British Columbia. Victoria, 1985.
- McDowell, L.R.; Velásquez-Pereira, J.; Valle, G. **Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales**. University of Florida. Gainesville, 1997.
- Miller, J.K.; Brzezinska-Slebozinska, E.; Madsen, F.C. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. **Journal Dairy Science**. v.76, p.2812-2823, 1993.
- Miranda, M.I.; Castillo, C.; Santamarina, G. et al. Evaluación de los niveles de selenio en corderos de raza Gallega. **ITEA**. v.92a, p.134-142, 1996.
- Rotruck, J.T.; Pope, A.L.; Ganther, H.E. et al. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. **SCIENCE**. v.179, p.588-590, 1973.
- Rouanet, J.L.; Romero, O.; Demanet, R. Áreas agroecológicas en la IX Región: descripción. **Investigación Programa Agropecuario Carillanca**. v.7, p.18-23, 1988.
- Ruprechter, G.; Wittwer, F.; Contreras, P.A. et al. Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa en bovinos, equinos, ovinos, llamas y alpacas a pastoreo. **Archivos de Medicina Veterinaria**. v.30, p.57-58, 1998.
- Suttle, N.F.; Jones, D.G.; Woolliams, C. et al. Heinz body anemia in lambs with deficiencies of copper or selenium. **The British Journal of Nutrition**. v.58, p.539-548, 1987.