

DOI: 10.22034/AS.2021.23474.1401

## بررسی اثر اشکال مختلف سلنیوم بر خصوصیات هضمی خوراک کاملاً مخلوط گاوهای پرشیر، با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی و کیسه‌های نایلونی

سمیرا دهقانی<sup>۱</sup>، اکبر تقی زاده<sup>۲\*</sup>، علی حسینخانی<sup>۳</sup> و حمید محمدزاده<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۹۶۷/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۷/۳/۱۹

<sup>۱</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

<sup>۲</sup> استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

<sup>۳</sup> دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

<sup>۴</sup> استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

\*مسئول مکاتبه: Email: ataghius@yahoo.com

### چکیده

**زمینه مطالعاتی و هدف:** سلنیوم یکی از عناصر معدنی کم مصرف می‌باشد که برای عملکرد بهتر حیوانات ضروری است. تحقیق حاضر به منظور ارزیابی اثر اشکال مختلف سلنیوم بر خصوصیات هضمی خوراک کاملاً مخلوط گاوهای پرشیر، با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی انجام گرفت. روش کار: آزمایش در ۳ دوره ۲۸ روزه شامل ۲۱ روز عادت دهی و ۷ روز نمونه برداری اجرا شد. تیمارها شامل: (۱) جیره پایه + ۰/۳ ppm سلنیوم بصورت نانو، (۲) جیره پایه + ۰/۳ ppm سلنیوم بصورت سلنومتیونین، (۳) جیره پایه + ۰/۳ ppm سلنیوم بصورت سلنیت سدیم بودند. در روش تولید گاز ۳۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ انکوباسیون گردید. در روش کیسه‌های نایلونی (کیسه‌هایی با ابعاد ۱۲×۶cm) مقدار ۵ گرم نمونه به مدت صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸ و ۷۲ ساعت در شکمبه سه رأس گوسفند انکوبه شد. در روش سه مرحله‌ای هضم حدود ۵ گرم از خوراک در کیسه‌هایی با ابعاد ۱۰×۵ قرار داده و ۱۲ ساعت در شکمبه گوسفندان انکوبه گردید. **نتایج:** در طول اکثریت قریب به اتفاق ساعات انکوباسیون بیشترین میزان تولید گاز به ترتیب در تیمار نانو، آلی، معدنی و کنترل مشاهده شد. این اختلافها از ساعات ۳۶ انکوباسیون به بعد معنی دار بودند ( $P < 0/05$ ). پتانسیل تولید گاز (A) در تیمارهای نانو، آلی و معدنی بیشتر از شاهد بودند ( $P < 0/05$ ). بین تیمار نانو با آلی اختلاف معنی داری از لحاظ پتانسیل تولید گاز وجود نداشت. تفاوت معنی داری بین تیمارها، از نظر تجزیه پذیری ماده خشک خوراک کاملاً مخلوط وجود نداشت ( $P > 0/05$ ). در آزمایش سه مرحله‌ای هضم، تیمار نانو موجب افزایش تجزیه پذیری بعد شکمبه‌ای ماده خشک خوراک کاملاً مخلوط نسبت به تیمار معدنی شد ( $P < 0/05$ ). **نتیجه گیری نهایی:** نتایج نشان می‌دهد که افزودن منابع مختلف سلنیوم به جیره می‌تواند عملکرد شکمبه را بهبود بخشد.

**واژگان کلیدی:** سلنیوم، خوراک کاملاً مخلوط، تولید گاز، کیسه‌های نایلونی، هضم سه مرحله‌ای، گاو شیرده

## مقدمه

تولید بهتر و تداوم سلامتی در دام و طیور، نیازمند تامین مواد مغذی ضروری به میزان مشخص و به صورت قابل دسترس در بدن می‌باشد. بیشتر خوراک‌هایی که به طور معمول در تغذیه دام استفاده می‌شوند از نظر برخی مواد مغذی دچار کمبود بوده و نیاز به افزودن مواد مغذی مورد نیاز به جیره دام را پدید می‌آورند. استفاده از مواد معدنی کم نیاز و تاثیر آن‌ها در ثبات تولید و جلوگیری از بروز علائم کمبود این مواد در گاو و گوسفند در طی سالیان گذشته مورد توجه بوده است. بهر حال محققان در صنعت پرورش گاو شیری و دانشگاه‌ها تمایل زیادی را برای درک عوامل موثر بر نیاز دام به مواد معدنی کم نیاز و قابلیت هضم آن‌ها از خود نشان داده‌اند (نجف نژاد و همکاران ۱۳۹۳). هدف بسیاری از تحقیقات تعیین اثر شیمیایی مواد معدنی کم نیاز بر مقدار تراکم این مواد در بدن دام و ارزیابی مزایای احتمالی افزایش دادن مواد معدنی کم نیاز به مقدار بیش از نیاز دام و اثرات آن بر سلامتی و تولیدات دام می‌باشد (نجف نژاد و همکاران ۱۳۹۵).

با توجه به اهمیت و نقشی که مواد معدنی در تغذیه دام‌ها دارند، شناخت وضعیت عناصر معدنی در مواد غذایی امری ضروری به نظر می‌رسد. در میان عناصر کمیاب معدنی، عنصر سلنیوم از اهمیت خاصی برخوردار است که برای سلامتی، ایمنی و عملکرد تولیدی بهینه حیوانات ضروری است. عدد اتمی این عنصر که خواص شیمیایی بین فلز و نافلز دارد، ۳۴ و وزن اتمی آن، ۷۸/۹۶ گرم بر مول بوده و بصورت طبیعی دارای ۶ ایزوتوپ ( $^{74}\text{Se}$ ،  $^{76}\text{Se}$ ،  $^{77}\text{Se}$ ،  $^{78}\text{Se}$ ،  $^{80}\text{Se}$  و  $^{82}\text{Se}$ ) است. سلنیوم در چهار وضعیت اکسیداسیون شامل: ۲- (سلنید)، صفر (عنصر)، ۴+ (سلنیت) و ۶+ (سلنات) یافت می‌شود (بارسلوکس، ۱۹۹۹). سلنیوم در سال ۱۸۱۷ توسط جونز جاکوب

برزیلوس، به هنگام کار با اسیدسولفوریک شناسایی و کشف شد. او به هنگام کار با گیاهان پرورش یافته در محیط اسید سولفوریکی این عنصر را کشف و نام سلن (Selene) به معنی ماه را بر آن نهاد (آندروود و ساتل ۱۹۹۹). کمبود سلنیوم می‌تواند موجب کاهش تولید شده و سلامتی دام را به مخاطره اندازد (رامیرز و همکاران ۲۰۰۱). اشکال معدنی معمول سلنیوم عبارتند از سلنیت سدیم ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) و سلنات سدیم ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ )، در حالی که سلنومتیونین (SeMet) و سلنوسیستئین (SeCys) دو شکل آلی این عنصر را تشکیل می‌دهند. نانو سلنیوم شکل جدید سلنیوم است که اخیراً توجه زیادی را به خود جلب کرده است، که دلیل آن زیست‌فراهمی بالاتر، سمیت کمتر و عملکرد بهتر این عنصر در برآورد نیازهای دام نسبت به نمک‌های سلنیوم است (زانگ و همکاران ۲۰۰۸، زون و همکاران ۲۰۱۲ و زو و همکاران ۲۰۰۳). مشخص شده است که اشکال آلی و نانو سلنیوم نسبت به نوع معدنی عنصر سلنیوم به میزان بیشتری جذب می‌شوند (شی و همکاران ۲۰۱۱). سلنومتیونین از مسیر مشابه با اسیدهای آمینه جذب می‌شود، که در نتیجه ممکن است باعث رقابت بین اسیدهای آمینه و سلنومتیونین در مسیر جذب و محدود کردن جذب یکدیگر همراه باشد (اسچروزر ۲۰۰۳). مکانیسم جذب سلنیوم آلی در دیواره روده به صورت انتقال فعال انجام می‌گیرد و به صورت غیر اختصاصی در تمام پروتئین‌های بدن در محل قرارگیری اسیدآمینه متیونین در زمان سنتز پروتئین توزیع می‌گردد، که این عمل موجب تولید منبعی غنی و قابل بازیافت از سلنیوم در بافت‌ها و ارگانهای بدن می‌شود (اسچروزر ۲۰۰۰) توصیه NRC (۱۹۸۵) برای بره‌های در حال رشد، مقدار سلنیوم مورد نیاز ۰/۱ تا ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم ماده خشک جیره است در حالی که NRC (۲۰۰۷) این مقدار سلنیوم را به ۰/۲۲ تا ۰/۴۴ میلی‌گرم در کیلوگرم

تا شرایط فیزیولوژیکی طبیعی خود را بدست آورند. هر یک از این گوسفندها در باکس انفرادی نگهداری شده و در طی مدت آزمایش جیره حاوی علوفه و کنسانتره به نسبت ۶۰:۴۰ دو بار در روز به طوری که قادر به تامین احتیاجات نگهداری باشند (۶۴ گرم=CP، ۱/۶۳ مگاکالری ME= و ۰/۸۷ کیلوگرم=DMI) دریافت می‌کردند. جیره گوسفندان از نظر مقدار و نوع مکمل سلنیوم به کار رفته در آن متفاوت بودند. ۱. جیره اول حاوی ۰/۳ میلی‌گرم سلنیوم در هر کیلوگرم ماده خشک خوراک، سلنیوم معدنی از منبع سلنیت سدیم، ۲. جیره دوم حاوی ۰/۳ میلی‌گرم سلنیوم در هر کیلوگرم ماده خشک خوراک، سلنیوم آلی به شکل سلنومتیونین، ۳. جیره سوم حاوی ۰/۳ میلی‌گرم سلنیوم، در هر کیلوگرم ماده خشک خوراک، به شکل نانوسلنیوم ساخته شده به روش هیدروترمال بود.

جیره‌های آزمایشی از نظر نوع پروتئین و انرژی و محتوی NDF علوفه‌ای مشابه بوده و تنها اختلاف موجود در آن‌ها افزودن نوع سلنیوم مورد استفاده بود.

#### آنالیز شیمیایی

میزان ماده خشک، پروتئین خام، دیواره سلولی الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و چربی خام طبق روش‌های پیشنهادی AOAC (۲۰۰۲) و روش ون سوست اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

#### تعیین تجزیه پذیری با استفاده از کیسه‌های نایلونی

برای تعیین تجزیه پذیری مواد غذایی مورد آزمایش گوسفندان فیستولا گذاری شده در حد نگهداری دو بار در روز با جیره های حاوی اشکال مختلف سلنیوم (نانو، آلی و معدنی) تغذیه و عادت دهی شدند. نمونه خوراک مورد استفاده برای کیسه‌ها با آسیاب مخصوص و با غربال ۲ میلی‌متری آسیاب شد. مقدار ۵ گرم از نمونه خوراک (بدون مکمل سلنیومی) داخل کیسه‌های نایلونی از جنس

ماده خشک افزایش داده است. طبق توصیه NRC (۲۰۰۱) مقدار سلنیوم مورد نیاز گاوهای شیری هلشتاین در ابتدای دوره شیردهی ۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک مصرفی است. طبق توصیه NRC (۲۰۰۷) میزان سلنیوم مورد نیاز گوسفند در حد نگهداری ۰/۰۰۰۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و میزان سلنیوم مورد نیاز برای رشد گوسفند ۰/۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم افزایش وزن زنده می‌باشد. کجوری و همکاران (۲۰۱۱) و مهري و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که خاک بسیاری از نقاط دنیا و از جمله ایران با کمبود سلنیوم مواجه است و علائم کمبود نیز در دام‌ها شایع می‌باشد در کشور ما تحقیقات چندانی به منظور بررسی اثر سلنیوم صورت نگرفته است. تحقیقات اندکی در نشخوارکنندگان به منظور بررسی اثر سلنیوم خوراکی بر گوارش پذیری مواد مغذی خوراکی‌ها و غلظت سایر عناصر انجام شده و نیاز به تحقیقات جدید ضروری به نظر می‌رسد. تحقیق حاضر به منظور ارزیابی اثر اشکال مختلف سلنیوم بر خصوصیات هضمی خوراک کاملاً مخلوط گاوهای پرشیر، با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی درگوسفند فیستولا گذاری شده انجام گرفت.

#### مواد و روش‌ها

##### حیوان و محل آزمایش

اجرای مراحل مختلف مزرعه‌ای و آزمایشگاهی به ترتیب در واحد گوسفندداری ایستگاه تحقیقات کشاورزی خلعت پوشان دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز و آزمایشگاه تغذیه و هضم پیشرفته واقع در ساختمان تحصیلات تکمیلی دانشگاه تبریز صورت گرفت. آزمایش در ۳ دوره ۲۸ روزه شامل ۲۱ روز عادت‌دهی و ۷ روز نمونه‌برداری اجرا شد. جهت تعیین تجزیه پذیری شکمبه‌ای، از ۳ راس گوسفند قزل فیستولا گذاری شده استفاده شد. گوسفندها به مدت یک ماه پس از جراحی مورد مراقبت قرار گرفتند

درصد مواد غذایی متراکم و ۶۰ درصد علوفه، تغذیه شده بودند، توسط پارچه توری چهار لایه جمع‌آوری شده و در داخل فلاسک حاوی گاز دی اکسید کربن، سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. قبل از انتقال مایع شکمبه به داخل شیشه‌های سرم، با بافر تهیه شده به روش مکدوگال (۱۹۴۸) به نسبت ۱ به ۲ (یک قسمت مایع شکمبه و دو قسمت بافر) مخلوط شد. در هر شیشه حاوی تیمار آزمایش مقدار ۲۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر افزوده شد و بعد از بی‌هوازی نمودن داخل شیشه با تزریق گاز دی اکسید کربن، درب شیشه‌ها توسط درپوش لاستیکی و پرس فلزی، بطور محکم بسته شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی با منشاء مایع شکمبه تعداد ۳ عدد شیشه بدون ماده غذایی و فقط دارای مایع شکمبه در نظر گرفته شدند. کل شیشه‌ها جهت اندازه‌گیری گاز تولیدی به داخل دستگاه انکوباتور شیکر با ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد، منتقل شده و عمل قرائت و ثبت میزان گاز تولیدی ناشی از تخمیر مواد غذایی به روش فدوراک (جابجایی آب) در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از عمل انکوبا سیون انجام گرفت.

#### روش هضم سه مرحله‌ای

هضم سه مرحله‌ای بر اساس روش گارگالو و همکاران (۲۰۰۶) و به شرح زیر اجرا شد:

- حدود ۵ گرم از خوراک تیمارهای مربوطه توزین و در کیسه‌های نایلونی از جنس داکرون به ابعاد  $10 \times 5$  سانتی‌متر و اندازه منافذ ۵۰ میکرومتر قرار داده شد. سپس کیسه‌های مربوط به هر ۳ تیمار در شکمبه گوسفندان عادت‌دهی شده با اشکال مختلف سلنیوم (نانو، آلی و معدنی) به طور جداگانه به مدت ۱۲ ساعت انکوبه شدند.

الیاف پلی‌استر مصنوعی به ابعاد  $6 \times 12$  سانتی‌متر و قطر منافذ ۵۰ میکرومتر ریخته شد. برای تعیین تجزیه پذیری در زمان صفر کیسه‌های حاوی نمونه به مدت ۱۵ دقیقه زیر آب شستشو شد. زمان‌های انکوباسیون شامل صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸ و ۷۲ ساعت بود. برای هر تیمار در هر ساعت ۲ تکرار تهیه شد به طوری که برای هر تیمار در هر ساعت انکوباسیون، درون شکمبه هر گوسفند ۲ کیسه قرار داده شد. این آزمایش در ۳ دوره ۲۸ روزه شامل ۲۱ روز عادت‌دهی و ۷ روز نمونه‌برداری تکرار شد. پس از هر ساعت انکوبا سیون، کیسه‌ها با آب سرد شستشو داده شد تا زمانی که آب خارج شده کاملاً شفاف با شد. پس از شستشو، کیسه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در حرارت ۶۵ درجه سانتی‌گراد جهت تبخیر و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شد.

#### اندازه‌گیری تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی

به منظور اندازه‌گیری تولید گاز از روش فدوراک و هرودی (۱۹۸۳) استفاده شد. در روش فوق میزان جابجایی مایع در داخل لوله‌های آزمایشی مدرج که در ارتباط با شیشه‌های حاوی مایع شکمبه و نمونه خوراک می‌باشند، معرف میزان تولید گاز است (فدوراک و هرودی ۱۹۸۳). در این روش ابتدا مواد خوراکی توسط آسیاب با قطر منافذ الک ۲ میلی‌متری بصورت یکنواخت آسیاب شدند. مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم از هر ماده خوراکی آسیاب شده با دقت توزین و به داخل شیشه‌های سرم استریل ۵۰ میلی‌لیتری منتقل گردید. برای هر نمونه ماده غذایی ۳ تکرار در نظر گرفته شد. مایع شکمبه مورد نیاز در آزمایش تولید گاز، ۲ ساعت بعد از وعده خوراک صبحگاهی، از ۴ رأس گوسفند فیستولا دار عادت‌دهی شده به مدت یک ماه با جیره غذایی حاوی اشکال مختلف سلنیوم (نانو، آلی، معدنی و بدون مکمل سلنیوم) که در سطح نگهداری شامل ۴۰

مواد خوراکی داخل کیسه‌ها همراه بود. نتایج نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود ندارد هرچند تجزیه‌پذیری عددی تیمار آلی بیشتر از سایر تیمارها بود. در ساعات ۲۴ تا ۴۸ انکوباسیون تفاوت معنی‌داری بین تیمار آلی با نانو دیده شد که تجزیه‌پذیری تیمار آلی بیشتر از نانو بود.

شی و همکاران (۲۰۱۱)، بیان نمودند که افزودن سطوح ۰/۱۵ تا ۰/۴۵ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم ماده خشک خوراک دام موجب افزایش تجزیه‌پذیری ماده خشک جیره شد. وانگ و همکاران (۲۰۰۹)، نیز افزایش تجزیه‌پذیری ماده خشک با افزودن مخمر سلنیومی به جیره دام را شاهد بودند. زون و همکاران (۲۰۱۲)، گزارش کردند استفاده از مکمل‌های نانو سلنیوم و مخمر غنی از سلنیوم، قابلیت هضم و تجزیه‌پذیری ماده خشک را افزایش داد اما درمقابل دلروسو-رودریگز و همکاران (۲۰۰۰)، گزارش کردند که استفاده از سلنیوم در سطوحی بالاتر از مقادیر توصیه شده توسط (۲۰۰۷) NRC در جیره گوسفند تغییری در قابلیت هضم و تجزیه‌پذیری ماده خشک جیره دام ایجاد نکرد. زون و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیقی که درمورد مقایسه اثر تکمیل سطوح بالای مکمل‌های نانو سلنیوم و مخمر غنی از سلنیوم بر قابلیت هضم خوراک و الگوی حاکم بر تخمیر شکمبه‌ای در گوسفند مشاهده کردند که قابلیت هضم و تجزیه‌پذیری ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی، NDF و ADF در کل لوله گوارش در گروهی که دام‌ها با مکمل سلنیومی تغذیه شده بودند نسبت به دام‌های گروه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است.

### سه مرحله‌ای هضم

در تحقیق حاضر آنالیز داده‌های حاصل نشان داد که از نظر میزان تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ماده خشک خوراک کاملاً مخلوط، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود ندارد

- بعد از انکوباسیون شکمبه‌ای، کیسه‌ها در ۳ بازه زمانی (هر کدام به مدت ۵ دقیقه) با ماشین کیسه شوی اتوماتیک شستشو شدند. سپس کیسه‌ها با آب شیر شسته شده و برای تجزیه بعدی نمونه‌هایی برداشته شده و در دمای ۱۸ - درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس آب کیسه‌های مورد نظر گرفته شده، در آن ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند.

- نیم گرم از ۵ گرم خوراکی باقیمانده از انکوباسیون، وزن شده و دوباره داخل کیسه‌ها ریخته شد و در هر بطری انکوباسیون انکوباتور دیزی قرار داده شد. ۲ لیتر از محلول اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال با pH ۱/۹ که حاوی ۱ گرم در لیتر پپسین می‌باشد اضافه شده و در دمای ۳۹ درجه سلسیوس به مدت ۱ ساعت با دور چرخش ثابت انکوبه شد.

- بعد از انکوباسیون، همه مایعات گرفته شده و کیسه‌ها تا پاک شدن کامل با آب شیر شستشو داده شد.

- کیسه‌های نشانداری داخل بطری انکوبا سیون در ۲ لیتر از محلول پانکراتینی (بافر  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ۰/۵ مولار، pH ۷/۷۵، حاوی ۵۰ قسمت در میلیون از تیمول و ۳ گرم در لیتر از پانکراتین) قرار داده شدند. کیسه‌ها در دمای ۳۹ درجه سلسیوس با دور ثابت به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند.

- بعد از انکوباسیون، مایعات کیسه‌ها گرفته شده و کیسه‌ها زیر آب شیر تا پاک شدن شستشو داده شدند.

- بعد از گرفته شدن آب کیسه‌ها، در آن ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند.

### نتایج و بحث

#### تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای

در طول مدت انکوباسیون با افزایش زمان انکوباسیون میزان ناپدید شدن افزایش یافت و این نشان از افزایش فعالیت میکروبی و اکوسیستم شکمبه بوده که با تجزیه

قرار دهد (کیم و همکاران ۱۹۹۷). وانگ و همکاران (۲۰۰۹) افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار تولیدی در محیط شکمبه را شاهدهی از افزایش تخمیر شکمبه‌ای دام با مصرف مکمل سلنیومی دانستند. حیدر اوغلو و همکاران (۱۹۶۸) گزارش کردند که فراهم بودن سلنیوم در شکمبه می‌تواند استفاده از آن توسط میکروب‌های شکمبه‌ای را تسهیل کرده و به این ترتیب موجب بهبود فرآیند تخمیر در محیط شکمبه شود. نرخ تولید گاز (C) نیز در تیمار شاهد از بقیه تیمارها بیشتر بوده و تیمار سلنیوم نانو و سلنیوم آلی در مرتبه دوم قرار داشتند ( $P < 0.05$ ). تیمار سلنیوم معدنی نیز کمترین نرخ تولید گاز را نشان داد ( $P < 0.05$ ). در مجموع نتایج نشان داد که افزودن مکمل سلنیوم خصوصاً به شکل نانو نسبت به شکل رایج معدنی آن موجب افزایش میزان قابلیت هضم جیره گاوهای شیرده می‌گردد.

#### پارامترهای تخمینی تولید گاز

مقادیر برآورد شده برای انرژی قابل متابولیسم (ME)، مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، انرژی ویژه شیردهی (NEL، مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (SCFA، میلی مول)، ماده آلی قابل هضم (DOM، % ماده خشک) از تولید گاز اشکال مختلف سلنیوم در جدول ۶ ارائه شده است. تفاوت معنی‌داری بین تیمارها از نظر این پارامترها وجود ندارد. همبستگی مثبتی بین ME و NEL محاسبه شده در تولید گاز با قابلیت دسترسی و قابلیت هضم ترکیبات خوراک بویژه کربوهیدرات مطرح شده است (آپاتاناکیت و همکاران ۱۹۹۴). برآورد بالای SCFA در تیمار نانو سلنیوم بعثت تولید بالای گاز در ساعت ۲۴ می‌باشد. گتاچیو و همکاران (۲۰۰۲)، ارتباط نزدیکی را بین SCFA و گاز تولیدی *in vitro* گزارش کردند و نتیجه گرفتند که استفاده از این رابطه که نشانگر قابلیت دسترسی انرژی برای دام

ولی تیمار نانو به طور معنی‌داری موجب افزایش قابلیت هضم روده‌ای ماده خشک خوراک کاملاً مخلوط، نسبت به تیمار معدنی شد. کاهش سلنیوم منجر به کاهش تعداد و فعالیت آنزیم‌های پروتئولایتیکی پانکراس می‌شود (چودهری و همکاران ۲۰۰۹) و به دلیل این که قابلیت دسترسی شکل نانو سلنیوم در روده نسبت به سایر شکل‌های مورد استفاده سلنیوم بیشتر است لذا استفاده از نانو سلنیوم سبب بهبود تولید آنزیم‌های هضمی پروتئولایتیک شده و قابلیت هضم روده‌ای را افزایش داده است.

#### تولید گاز

نتایج مربوط به تولید گاز در تیمارهای مختلف به همراه مشخصه‌های تولید گاز در جدول ۵ ارائه شده است. در طول اکثریت قریب به اتفاق ساعات انکوباسیون بیشترین میزان تولید گاز به ترتیب در تیمار نانو، تیمار آلی و تیمار معدنی مشاهده شد. این اختلاف‌ها از ساعات ۳۶ انکوباسیون به بعد معنی‌دار بودند. ارتباط نزدیک بین تخمیر شکمبه‌ای با تولید گاز از قبل گزارش شده است (گتاچیو و همکاران ۲۰۰۲). حجم گاز تولیدی که منعکس کننده تخمیر مواد خوراکی به اسیدهای چرب فرار است، می‌تواند برآوردی از قابلیت هضم ظاهری باشد (بلومل و همکاران ۱۹۹۳).

پس از اتمام انکوباسیون بیشترین پتانسیل تولید گاز (A) در تیمارهای سلنیوم نانو و آلی مشاهده شد و تیمارهای سلنیوم معدنی و تیمار کنترل در مرتبه دوم قرار داشتند ( $P < 0.05$ ). بین تیمار سلنیوم نانو با سلنیوم آلی اختلاف معنی‌داری از لحاظ پتانسیل تولید گاز وجود نداشت. تیمار سلنیوم معدنی یک تمایلی به بالاتر بودن پتانسیل تولید گاز نسبت به تیمار فاقد سلنیوم نشان داد ( $P = 0.09$ ). افزودن سلنیوم به جیره غذایی دام می‌تواند متابولیسم و عملکرد شکمبه، بویژه تخمیر میکروبی در آن را تحت تاثیر

سلولاییتیک موجب افزایش تجزیه‌پذیری محتوی NDF و تجزیه‌پذیری موثر (ED) جیره شد. اما در مقابل سرا و همکاران (۱۹۹۴) عدم تغییر قابلیت هضم NDF را با استفاده از سلنیت و سلنات سدیم در جیره گوسفند گزارش کردند. در آزمایش حاضر نیز استفاده از مکمل سلنیومی موجب بهبود تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای NDF و ADF شده است که احتمالاً این امر را می‌توان به افزایش تعداد و فعالیت باکتری‌های سلولاییتیک در شکمبه نسبت داد (شی و همکاران ۲۰۱۰).

### نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از منابع مختلف سلنیوم در جیره می‌تواند عملکرد شکمبه را بهبود بخشد و باعث افزایش تجزیه‌پذیری مواد مغذی در شکمبه شود. شکل نانو و آلی سلنیوم نسبت به شکل معدنی سلنیوم باعث بهبود پارامترهای تجزیه‌پذیری و شکمبه‌ای شدند اما تفاوت خاصی در این پارامترها بین شکل آلی و نانو دیده نشد. در این زمینه انجام تحقیقات بیشتر در جهت تعیین تاثیر استفاده از انواع مختلف مکمل سلنیومی در جیره غذایی گاوهای شیری جهت حصول به بهترین نتیجه ضروری به نظر می‌رسد.

می‌باشد، می‌تواند جهت تخمین تولید SCFA از گاز تولیدی، بکار رود. نسبت اسیدهای چرب فرار مختلف تولید شده در شکمبه نشخوارکنندگان نقش تعیین‌کننده‌ای در خصوصیات تولیدی دارد.

### تجزیه‌پذیری الیاف

نتایج مربوط به اثر افزودن مکمل‌های سلنیومی بر میزان تجزیه‌پذیری NDF, ADF جیره در جدول ۷ گزارش شده است. نتایج نشان می‌دهد که تاثیر معنی‌داری بین تیمارها از نظر تجزیه‌پذیری NDF وجود نداشت، هرچند که به لحاظ عددی میزان تجزیه‌پذیری نانو بیشتر از آلی و معدنی بود. به لحاظ تجزیه‌پذیری ADF میزان تجزیه‌پذیری تیمارهای نانو و آلی به طور معنی‌دار بیشتر از معدنی بود. وانگ و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که استفاده از سطوح کم و متوسط مخمر غنی از سلنیوم (۰/۱۵ و ۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) باعث افزایش تجزیه‌پذیری NDF و ADF جیره در کل دستگاه گوارش دام‌های مورد آزمایش شد. شی و همکاران (۲۰۱۰) اثر افزودن مکمل نانوسلنیوم در جیره غذایی گوسفند را بررسی کردند و گزارش نمودند که افزودن نانو سلنیوم با افزایش تعداد و فعالیت باکتری‌های

Table 1- Chemical composition of the TMR (% DM)

|     | DM    | CP    | Ash  | NDF   | ADF  | EE  |
|-----|-------|-------|------|-------|------|-----|
| TMR | 60.34 | 16.62 | 6.83 | 33.46 | 16.2 | 6.5 |

\* Three samples analyzed for each treatments.

DM: Dry matter, CP: Crude protein, EE: Ether extract, NDF: Neutral detergent insoluble fiber, ADF: Acid detergent insoluble fiber, TMR: total mized ratio

Table 2- Degradability of dry matter at different times of incubation (%) by *in situ* method

| Incubation time | Source of Selenium |                    |                     | SEM   |
|-----------------|--------------------|--------------------|---------------------|-------|
|                 | Nano-Se            | Organic-Se         | Inorganic-Se        |       |
| 0               | 40.80 <sup>a</sup> | 41.02 <sup>a</sup> | 40.46 <sup>b</sup>  | 0.091 |
| 2               | 41.96              | 42.30              | 41.47               | 0.595 |
| 4               | 44.32              | 45.22              | 43.19               | 0.751 |
| 8               | 48.53              | 48.49              | 47.30               | 0.766 |
| 12              | 53.96              | 51.69              | 54.09               | 1.122 |
| 16              | 56.39              | 56.11              | 54.24               | 2.086 |
| 24              | 58.31 <sup>b</sup> | 62.27 <sup>a</sup> | 61.47 <sup>ab</sup> | 1.154 |
| 36              | 61.35 <sup>b</sup> | 68.66 <sup>a</sup> | 65.42 <sup>ab</sup> | 1.511 |
| 48              | 67.05 <sup>b</sup> | 72.59 <sup>a</sup> | 68.74 <sup>ab</sup> | 1.268 |
| 72              | 75.75              | 78.63              | 77.19               | 1.685 |

Table 3- *in situ* degradability parameters of dry matter

| Item  | Source of Selenium |                    |                     | SEM   |
|---|--------------------|--------------------|---------------------|-------|
|   | Nano-Se            | Organic-Se         | Inorganic-Se        |       |
| <b>In situ degradability parameters</b>   |                    |                    |                     |       |
| a <sup>1</sup>  | 40.91              | 39.91              | 39.85               | 0.422 |
| B <sup>2</sup>  | 44.06              | 46.90              | 47.63               | 4.920 |
| C <sup>3</sup>  | 0.0284             | 0.0314             | 0.0254              | 0.004 |
| <b>In situ effective rumen degradability for different passage rate (K)<sup>4</sup></b> |                    |                    |                     |       |
| 0.02  | 63.15 <sup>b</sup> | 65.78 <sup>a</sup> | 64.81 <sup>ab</sup> | 0.761 |
| 0.05  | 54.28              | 56.01              | 54.81               | 0.585 |
| 0.08  | 50.56              | 51.66              | 50.58               | 0.588 |

1- a: Soluble fraction with rapid degradation rate.

2- b: Insoluble fraction with potential of degradation.

3- c: Degradation rate of fraction b, %/h.

4- Effective degradability of dry matter at passage rates of 2, 5 and 8 %/h (K).

Table 4- Ruminal and post ruminal degradability of dry matter (%)

|                            | انواع سلنیوم<br>Source of Selenium |                    |                   | SEM  |
|----------------------------|------------------------------------|--------------------|-------------------|------|
|                            | Nano-Se                            | Organic-Se         | Inorganic-Se      |      |
| Ruminal degradability      | 61.1                               | 62.2               | 59.9              | 1.53 |
| Post ruminal degradability | 33.1 <sup>a</sup>                  | 31.4 <sup>ab</sup> | 29.1 <sup>b</sup> | 1.00 |
| Total tract degradability  | 72.3                               | 74.0               | 70.8              | 1.63 |



**Table 5- The gas production volume (ml per g dry matter) and gas production parameters at different times of incubation**

| Incubation time            | منابع سلنیوم<br>Source of Selenium |         |            |              |        | مقایسه بین تیمارها<br>Comparisons |                        |                          |                        |                          |                             |
|----------------------------|------------------------------------|---------|------------|--------------|--------|-----------------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|-----------------------------|
|                            | Control                            | Nano-Se | Organic-Se | Inorganic-Se | SEM    | Control vs. Nano-Se               | Control vs. Organic-Se | Control vs. Inorganic-Se | Nano-Se vs. Organic-Se | Nano-Se vs. Inorganic-Se | Organic-Se vs. Inorganic-Se |
| 2                          | 58.1                               | 37.7    | 52.4       | 28.2         | 4.882  | 0.0182                            | 0.4373                 | 0.0025                   | 0.0648                 | 0.2076                   | 0.0079                      |
| 4                          | 103.8                              | 96.4    | 92.5       | 75.2         | 7.037  | 0.4849                            | 0.2922                 | 0.0209                   | 0.7029                 | 0.0651                   | 0.1198                      |
| 6                          | 136.5                              | 128.6   | 132.4      | 116.3        | 9.258  | 0.5657                            | 0.7628                 | 0.1619                   | 0.7816                 | 0.3738                   | 0.2541                      |
| 8                          | 164.9                              | 155.5   | 148.8      | 137.9        | 9.860  | 0.5203                            | 0.2825                 | 0.0891                   | 0.6443                 | 0.2425                   | 0.4566                      |
| 12                         | 192.7                              | 188.3   | 168.4      | 164.5        | 10.82  | 0.7833                            | 0.1519                 | 0.1027                   | 0.2301                 | 0.1580                   | 0.8027                      |
| 16                         | 212.6                              | 214.3   | 184.4      | 183.4        | 11.53  | 0.9222                            | 0.1218                 | 0.1112                   | 0.1045                 | 0.0953                   | 0.9537                      |
| 24                         | 229.2                              | 247.9   | 215.2      | 218.1        | 12.62  | 0.3259                            | 0.4542                 | 0.5527                   | 0.1041                 | 0.1342                   | 0.8716                      |
| 36                         | 234.9                              | 283.6   | 247.5      | 251.9        | 13.29  | 0.0320                            | 0.5196                 | 0.3930                   | 0.0912                 | 0.1295                   | 0.8244                      |
| 48                         | 239.2                              | 306.1   | 277.2      | 270.6        | 12.97  | 0.0065                            | 0.0726                 | 0.1254                   | 0.1532                 | 0.0892                   | 0.7311                      |
| 72                         | 242.3                              | 322.6   | 305.6      | 286.3        | 13.06  | 0.0025                            | 0.0090                 | 0.0442                   | 0.3840                 | 0.0852                   | 0.3278                      |
| 96                         | 245.3                              | 330.1   | 327.7      | 296.4        | 13.19  | 0.0019                            | 0.0022                 | 0.0256                   | 0.9026                 | 0.1087                   | 0.1317                      |
| <b>Gas test parameters</b> |                                    |         |            |              |        |                                   |                        |                          |                        |                          |                             |
| A                          | 240.3                              | 321.6   | 321.7      | 287.5        | 12.87  | 0.0021                            | 0.0021                 | 0.0321                   | 0.9977                 | 0.0976                   | 0.0972                      |
| C                          | 0.1376                             | 0.0665  | 0.0419     | 0.0649       | 0.0057 | <.0001                            | <.0001                 | <.0001                   | 0.0153                 | 0.8436                   | 0.0208                      |

\* Three samples were analysed in gas production for each incubation hour.

A: Potential of gas production (ml/g DM), C: Gas production rate (ml/h).

**Table 6-The gas production parameters (% DM)**

|                 | Source of Selenium |            |              |         | SEM   |
|-----------------|--------------------|------------|--------------|---------|-------|
|                 | Nano-Se            | Organic-Se | Inorganic-Se | Control |       |
| ME              | 9.92               | 9.03       | 9.11         | 9.41    | 0.594 |
| NE <sub>L</sub> | 5.84               | 4.73       | 4.80         | 5.05    | 0.502 |
| DOM             | 65.63              | 59.81      | 60.34        | 62.30   | 3.888 |
| SCFA            | 1.09               | 0.95       | 0.96         | 1.01    | 0.097 |

ME: Metabolizable energy (MJ/kg DM)

NE<sub>L</sub>: Net energy for lactation (MJ/kg DM)

SCFA: Short chain fatty acids (mMol/200 mg DM)

DOM: Digestible organic matter (%)

**Table 7- Effects of Selenium supplementation on NDF and ADF degradability at 72 h of incubation**

|     | Source of Selenium |                 |                 |       |
|-----|--------------------|-----------------|-----------------|-------|
|     | Nano-Se            | Organic-Se      | Inorganic-Se    | SEM   |
| NDF | 76                 | 75              | 74              | 0.813 |
| ADF | 43 <sup>a</sup>    | 41 <sup>a</sup> | 39 <sup>b</sup> | 0.576 |

#### منابع مورد استفاده

- AOAC, 2002. Official Methods of Analysis. 17th Edn. AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA.
- Barceloux DG, 1999. Selenium. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology* 37:145-172.
- Blummel M and Ørskov ER, 1993. Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Animal Feed Science and Technology* 40: 109–119.
- Chaudhary M, Garg AK, Mittal GK and Mudgal V, 2009. Effect of organic selenium supplementation on growth, se uptake, and nutrient utilization in guinea pigs. *Biological Trace Element Research* 133:217–226.
- Del Razo-Rodriguez OE, Ramirez-Briebesca JE, Lopez-Arellano R, Oblitas F, Contreras PA, Bohmwald H and Wittwer F, 2000. Efecto de la suplementacion con selenio sobre la actividad sanguínea de glutatión peroxidasa (GSH-PX) y ganancia de peso en bovinos selenio deficientes mantenidos a pastoreo. *Archivos De Medicina Veterinaria* 32:55-62.
- Fedorak PM and Hrudey SE, 1983. A Simple apparatus for measuring gas production by methanogenic cultuvesin serum bottles. *Environmental Technology Letters* 4: 425-435.
- Gargallo S, Calsamiglia S and Ferret A, 2006. Technical note: A modified three-step in vitro procedure to determine intestinal digertion of proteins. *Journal of Animal Science* 84:2163-2176.
- Getachew G, Makkar HPS and Becker K, 2002. Tropical browses: content of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acids and in vitro gas production. *Journal of Agricultural Science* 139: 341-352.
- Hidiroglou M, Heaney DP and Jenkins KJ, 1968. Metabolism of inorganic selenium in rumen bacteria. *Canadian Journal of Physiological Pharmacology* 46, 229–232
- Kim J, Vansoest PJ and Combs GF, 1997. Studies on the effects of selenium on rumen microbial fermentation in vitro. *Biological Trace Element Research* 56:203-213.

- Kojouri GA and Shirazi A, 2007. Serum concentration of Cu, Zn, Fe, Mo, and Co in newborn lambs following systemic administration of Vitamin E and selenium to the pregnant ewes. *Small Ruminant Research* 70:136-139.
- McDougall EI, 1948. The composition and output of sheep in saliva. *Biological Chemical Journal* 43: 99-109.
- Mohri M, Ehsani A, Norouzian MA, Heidarpour M and Seifi HA, 2011. Parenteral selenium and vitamin E supplementation to lambs: hematology, serum biochemistry, performance, and relationship with other trace elements. *Biological Trace Element Research* 139:308-316.
- Najafnejad B, Aliarabi H, Taghizadeh A and Alipour D, 2014. Comparison effects of different selenium sources in cottonseed rich diets on digestibility of the diet, performance and hematological parameters of lactating dairy cows. *Journal of Ruminant Research* 2:79-98.
- Najafnejad B, Aliarabi H, Tabatabaei MM, Taghizadeh A, Alipour D and Zaboli KH, 2016. Effects of different sources of selenium on some hematological parameters and antioxidant response in Holstein dairy cows. *Journal of Animal Science Research* 26: 45-57.
- NRC, 1985. *Nutrient Requirements of Sheep*, 5th edn. National Academy of Sciences, Washington, DC.
- NRC, 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cows*. 7th edn. National Academy of Sciences, Washington, DC.
- NRC, 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids*. National Academy Press, Washington, DC.
- Opatpatanakit Y, Kellaway RC, Lean IJ, Annison G and Kirby A, 1994. Microbial fermentation of cereal grains in vitro. *Australian Journal of Agricultural Research* 45: 1247-1263.
- Ramirez BJE, Tortora JL, Huerta M, Aguirre A and Hernandez LM, 2001. Diagnosis of selenium status in grazing dairy goats on the Mexican plateau. *Small Ruminant Research* 41:8-85.
- Schrauzer GN, 2000. Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *The Journal of Nutrition* 130: 1653–1656.
- Schrauzer GN, 2003. The nutritional significance, metabolism and toxicology of selenomethionine. *Advances in Food and Nutrition Research* 47: 73–112.
- Shi L, Xun W, Yue W, Zhang C, Ren Y, Liu Q, Wang Q and Shi L, 2010. Effect of elemental nano-selenium on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep. *Animal Feed Science and Technology* 163:136–142.
- Shi LG, Xun WJ, Yue WB, Zhang CX, Ren YS, Liu Q, Wang Q and Shi L, 2011. Effect of elemental nano-selenium on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep. *Animal Feed Science and Technology* 163:136–142.
- Underwood EJ and Suttle NF, 1999. *The mineral nutrition of livestock*. CAB international, Wallingford, U.K.
- Wang C, Liu Q, Yang WZ, Dong Q, Yang XM, He DC, Zhang P, Dong KH and Huang YX, 2009. Effects of selenium yeast on rumen fermentation, lactation performance and feed digestibilities in lactating dairy cows. *Livestock Science* 126: 239–244.
- Xu BH, Xu ZR and Xia MS, 2003. Effect of nano red elemental selenium on GPx activity of broiler chick kidney cells in vitro. *Wuhan University Journal of Natural Sciences* 8: 1167–1172.
- Xun W, Shi L, Yue W, Zhang CH, Ren Y, Liu Q, 2012. Effect of High-Dose Nano-selenium and Selenium–Yeast on Feed Digestibility, Rumen Fermentation, and Purine Derivatives in Sheep. *Biological Trace Element Research* 150:130–136.
- Zhang JS, Wang XF, Xu TW, 2008. Elemental selenium at nano size (Nano-Se) as a potential chemopreventive agent with reduced risk of selenium toxicity: comparison with Se-methylselenocysteine in mice. *Toxicological Sciences* 101:22–31.

## Investigation of different forms of selenium on digestibility of totally mixed ration of high producing dairy cows using in vitro and in situ techniques

S Dehghani<sup>1</sup>, A Taghizadeh<sup>2\*</sup>, A Hosseinkhani<sup>3</sup> and H Mohammadzadeh<sup>4</sup>

Received: October 17, 2017 Accepted: June 9, 2018

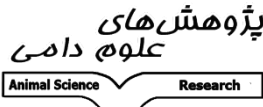

<sup>1</sup>Graduated Student of Ruminant Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>Perofessor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>3</sup>Associated Perofessor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>4</sup>Assistant Perofessor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

\*Corresponding author: Email: [ataghius@yahoo.com](mailto:ataghius@yahoo.com)

|  |  |   |
|--|--|---|
|  <p>پژوهش‌های علوم دامی<br/>Animal Science Research</p>   | <p>Journal of Animal Science/vol.31 No.2/ 2021/pp 1-13<br/><a href="https://animalscience.tabrizu.ac.ir">https://animalscience.tabrizu.ac.ir</a></p> |  |
| <p>© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran<br/>This is an open access article under the CC BY NC license (<a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/</a>)<br/>DOI: 10.22034/AS.2021.23474.1401</p> |  |   |

**Introduction:** Selenium, a trace mineral element, is essential for health, immunity, and maximum production performance of animals. Selenium is involved in enzyme activity and antioxidant defense systems thus preventing oxidative damage to body tissue. Recently, nano -elemental selenium has attracted widespread attention due to its high bioavailability and low toxicity. In general, nanometer particulates exhibit novel characteristics, such as great specific surface area, high surface activity, numerous surface active sites, high catalytic efficiency, strong adsorbing ability as well as low toxicity. Dietary selenium as an essential trace element, plays important roles in the regulation of thyroid hormone metabolism, cell growth and antioxidant defense systems thus, together with alpha-tocopherol prevents cells against oxidative stress damage, also these compounds are necessary for growth, fertility, and immune system health in animals and humans. The aim of this study was to investigate the effects of different forms of selenium sources on digestibility of high producing lactating dairy cows TMR in-vitro and in-situ Techniques.

**Material and methods:** Three male ruminally cannulated sheep (43±4.8 kg body weight), were used in this experiment with a replicated 3×3 latin square design. Sheep were fed twice daily (08:00 and 18:00 h) at maintenance nutrition requirements with a basal diet consisting of 400 g/kg dry matter (DM) of basal concentrates and 600 g/kg DM of forage. Sheep were individually placed in metabolic cages and fresh water was freely available during the experimental period. This experiment was conducted in three periods of 28 days with 21 d adaptation period and 7 d for data collection. Treatments were: 1. basal diet + 0.3 ppm nano selenium, 2. basal diet + 0.3 ppm organic selenium, 3. basal diet + 0.3 ppm inorganic selenium. In gas production method, 300 mg of each treatment was weighed and incubated for 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48, 72 and 96 hours. The Nylon bag method was used to estimate ruminal disappearance of dry matter. Ruminal degradability was measured using nylon bag technique on day 22–28 of the

experimental period. The feed samples (5 g) of were weighed and placed in nylon bags ( $6 \times 12$  cm, made of monofilament Pecap polyester). Right after, samples were separately incubated in duplicate bags and suspended in the rumen of each sheep and removed after 0, 2, 4, 8, 12, 16, 24, 36, 48 and 72 hours. All removed bags were rinsed and cleaned in cold water. Subsequently, bags were oven dried at  $65^\circ\text{C}$  for 12 h and then  $105^\circ\text{C}$  for 24 h in order to determine DM disappearance. In three steps digestion method, about 5 g of feed stuffs were weighed and placed in nylon bags ( $6 \times 10$  cm, made of monofilament Pecap polyester). Samples were incubated separately in duplicate bags and suspended in the rumen of each sheep and removed after 12 hours. All removed bags were rinsed in cold water until the bags were clean; the bags immediately were dried in an oven to determine DM disappearance.

**Results and discussion:** During most of incubation hours, the volume of produced gas was higher in nano selenium, organic selenium, inorganic selenium and control treatments. However, we observed significant differences between treatments after 36 h of incubation. The most gas production potential (A) was measured in nano selenium, organic selenium and inorganic selenium and control treatments. There were not any significant differences between nano selenium and organic selenium in gas production potential. There was not any significant difference between treatments in degradability of TMR dry matter. In three steps digestion experiment, post ruminal digestion of TMR dry matter was higher in nano treatment than inorganic treatment Effect of selenium supplement on NDF degradability of the diet was insignificant Yet, nano and organic selenium increased the ADF degradability compared with the inorganic selenium ( $P>0.05$ ).

**Conclusion:** The results showed that the addition of various sources of selenium to the diet may improve rumen function.

**Keywords:** Selenium, Totally mixed ration, Gas production, Nylon bag, three steps digestion, Dairy cow