نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۵، شماره ۱، بهار ۱۳۹۲، ص. ۵۵-۴۸

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 5, No. 1, Spring 2013, p. 48-55

اثر سطوح مختلف مکمل سلنیوم بر عملکرد، متابولیت‌های خونی و گوارش‌پذیری مواد مغذی در بره‌های نر نژاد مهربان

رضا علیمحمدی[۱] - حسن علی‌عربی[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۹/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۲/۲۸

چکیده

به منظور بررسی اثر سطوح مختلف مکمل سلنیوم بر عملکرد، متابولیت‌های خون و گوارش‌پذیری موادمغذی در بره‌های نر نژاد مهربان دو آزمایش انجام شد. در آزمایش اول ۱۸ رأس بره با سن ۵-۴ ماه و میانگین وزن بدن ۲/۷ ± ۳۵/۹ بطور تصادفی به ۳ گروه تقسیم شدند و تیمارها شامل: تیمار اول (جیره شاهد بدون افزودن مکمل سلنیوم، که حاوی ۰/۰۶ پی‌پی‌ام سلنیوم بود)، تیمار دوم (جیره شاهد + ۰/۲ پی‌پی‌ام سلنیوم بصورت سلنیت‌سدیم) و تیمار سوم (جیره شاهد + ۰/۴ پی‌پی‌ام سلنیوم بصورت سلنیت‌سدیم) بود. این آزمایش ۷۰ روز به طول انجامید. در روزهای صفر، ۳۵ و ۷۰ آزمایش خونگیری انجام شد. در آزمایش دوم ۴ رأس بره از هر کدام از گروه‌های آزمایش اول بطور تصادفی به قفس‌های متابولیکی انتقال یافتند تا اثر مکمل سلنیوم بر گوارش‌پذیری ظاهری موادمغذی اندازه‌گیری شود. آزمایش قابلیت هضم شامل ۱۲ روز عادت‌پذیری و ۶ روز جمع‌آوری نمونه‌ها بود. این تحقیق بصورت طرح کاملاً تصادفی انجام شد. افزودن سلنیوم به جیره تأثیر معنی‌داری بر عملکرد بره‌ها نداشت. در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری از لحاظ غلظت عناصر معدنی پلاسما، متابولیت های چربی سرم و همچنین گوارش‌پذیری موادمغذی جیره وجود نداشت. در تیمارهای دریافت کننده سلنیوم، کاهش معنی‌داری در غلظت هورمون تترایدوتیرونین (T_4) و افزایش معنی‌داری نیز در غلظت هورمون تری‌یدوتیرونین (T_3) سرم و فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX) خون کامل مشاهده شد. به طور کلی نتایج این تحقیق نشان می دهد که با سطح ۰/۲ پی‌پی‌ام سلنیوم نیاز بره‌های در حال رشد مهربان، تأمین می‌شود.

واژه های کلیدی: بره، سلنیوم، عملکرد، گوارش پذیری

مقدمه

تولید بهینه و تداوم سلامتی در دام و طیور، مستلزم تأمین مواد مغذی ضروری به میزان مشخص و به شکل قابل دسترس در بدن می‌باشد. بیشتر خوراک‌هایی که بطور معمول در تغذیه دام استفاده می‌شوند از نظر برخی مواد مغذی دچار کمبود بوده و نیاز به مکمل-های غذایی را پدید می‌آورد. در بین مکمل‌های خوراکی، مواد معدنی پرمصرف و کم‌مصرف از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. سلنیوم از جمله مواد معدنی کم‌مصرف و ضروری است که در سال‌های اخیر به طور فزاینده‌ای توجه محققان تغذیه انسان و دام را به خود معطوف کرده است. اهمیت بیولوژیکی سلنیوم به‌عنوان جزئی از سلنوآنزیم‌ها در سال ۱۹۷۳ و با کشف گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX) مشخص شد (۱). گلوتاتیون‌پراکسیداز در تنظیم فرایندهای اکسیداتیو و محافظت از غشای سلولی ایفای نقش می‌کند (۱). نقش سلنیوم در فعالیت تیروئیدپراکسیداز به‌عنوان سلنوآنزیمی که در یددار کردن گلوبولین و جلوگیری از تخریب غشای اپیتلیال تیروئید عمل می‌کند نیز شناسایی و گزارش شده است (۱). از جمله سلنوآنزیم‌های دیگر می‌توان به آنزیم‌های جداکننده ید اشاره نمود که برای تبدیل هورمون تترایدوتیرونین (T_4) به شکل متابولیکی فعال‌تر آن یعنی هورمون تری‌یدوتیرونین (T_3) ضروری است (۱). توصیه‌ی NRC (۱۹۸۵) برای بره‌های در حال رشد، مقدار ۰/۱ تا ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم در کیلوگرم ماده‌خشک جیره بوده در حالی‌که NRC (۲۰۰۷) این مقدار را به ۰/۲۲ تا ۰/۴۴ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک افزایش داده است. امروزه سلنیت‌سدیم معمول‌ترین شکل سلنیوم خوراکی بوده که به جیره دام افزوده می‌شود. تحقیقات متعددی به منظور بررسی نقش

۱و۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان
(*- نویسنده مسئول: Email: h_aliarabi@yahoo.com

تغذیه‌ای سلنیوم انجام گرفته است. جونیپر و همکاران (۱۲)، مشخص نمودند که استفاده از سلنیوم باعث افزایش غلظت سلنیوم خون، شیر و بافت‌ها شد. کومار و همکاران (۱۷ و ۱۸)، و وانگ و همکاران (۳۶)، نیز به ترتیب افزایش ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها و افزایش رشد میکروارگانیسم‌های شکمبه را با استفاده از مکمل سلنیوم گزارش نموده اند. با این حال در برخی تحقیقات دیگر تفاوت چشمگیری مشاهده نشده است که می‌تواند به دلیل شرایط پرورش و مقدار سلنیوم جیره پایه باشد (۲۶ ، ۳۱ و ۳۵).

علیرغم به اینکه خاک بسیاری از نقاط دنیا و از جمله ایران با کمبود سلنیوم مواجه است (۱۵ و ۲۱)، و علائم کمبود نیز در دام‌ها شایع می باشد، در کشور ما تحقیقات چندانی به منظور بررسی اثر سلنیوم صورت نگرفته است. علاوه بر این، اکثر تحقیقات بر مبنای تزریق سلنیوم در جنس ماده بوده است (۱۵ ، ۱۹ و ۲۱). تحقیقات اندکی در نشخوارکنندگان به منظور بررسی اثر سلنیوم خوراکی بر گوارش‌پذیری مواد مغذی و غلظت سایر عناصر انجام گرفته و نیاز به تحقیقات جدید ضروری به نظر می‌رسد. تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر سطوح مختلف مکمل سلنیوم بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و گوارش‌پذیری مواد مغذی جیره در بره های نر نژاد مهربان انجام شد.

مواد و روش ها

این پژوهش در ایستگاه تحقیقات دامپروری گروه علوم دامی دانشگاه بوعلی‌سینا همدان طی دو مرحله انجام شد. بدین منظور، تعداد ۱۸ رأس بره نر مهربان با سن ۵-۴ ماه و میانگین وزن بدن ۲/۷ ± ۳۵/۹ کیلوگرم انتخاب شدند. جایگاه نگهداری دام‌ها شامل ۱۸ جایگاه انفرادی، هر یک به ابعاد ۱۸۰ × ۱۱۰ سانتی‌متر بود، که قبل از قرار گرفتن دام‌ها، محوطه ابتدا تمیز و سپس با شعله افکن ضدعفونی شد. از یونجه خشک، دانه جو، سبوس گندم و کنجاله سویا به عنوان اجزاء تشکیل دهنده جیره غذایی (جدول ۱) استفاده شد.

جیره غذایی با توجه به جداول نیازهای غذایی NRC (۱۹۸۵) تنظیم و کلیه نیازهای دام به جز سلنیوم تأمین شد. به منظور افزودن سلنیوم به جیره از سلنیت سدیم تهیه شده از شرکت مرک (مرک، آلمان) استفاده شد. از سبوس گندم نیز به عنوان حامل مکمل‌ها استفاده گردید.

بره‌ها جهت عادت‌پذیری به محیط و جیره جدید در یک دوره دو هفته‌ای با جیره بدون مکمل سلنیوم تغذیه شدند. در پایان دوره عادت‌دهی، بره‌ها که ۱۲ الی ۱۴ ساعت از آب و خوراک محروم بودند توزین شده (این عمل طی دو روز متوالی انجام شد) و میانگین دو روز محاسبه شد. سپس به طور تصادفی به ۳ تیمار تقسیم شده (هر تیمار شامل ۶ بره)، و به مدت ۷۰ روز با دسترسی آزاد و انفرادی تغذیه شدند. تیمارها شامل: ۱- جیره غذایی پایه بدون مکمل‌های سلنیوم؛ ۲- جیره شاهد + ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک خوراک به شکل سلنیت سدیم؛ ۳- جیره شاهد + ۰/۴ میلی-گرم سلنیوم به ازاء هر کیلوگرم ماده خشک خوراک به شکل سلنیت سدیم.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی مواد خوراکی و جیره پایه مورد استفاده در آزمایش

اقلام جیره	گرم در کیلوگرم ماده خشک
یونجه	۳۲۰
جو	۵۸۰
کنجاله سویا	۴۰
سبوس گندم	۵۰
مکمل ویتامینی و معدنی[1]	۱۰
ترکیب شیمیایی جیره پایه (g/kg DM)	
ماده خشک	۹۰۹
انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)	۲/۷
پروتئین خام	۱۳۳
دیواره سلولی نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)	۱۸۱
دیواره سلولی نامحلول در شوینده خنثی (NDF)	۳۳۶
چربی خام	۱۷/۲
کلسیم	۶/۵
فسفر	۳/۴
سلنیوم (میلی گرم در کیلوگرم ماده خشک)	۰/۰۶

۱- با استفاده از مکمل معدنی در هر کیلوگرم از جیره پایه مقدار: ۶ میلی‌گرم $FeSO_4 \cdot 7H_2O$، ۵ میلی‌گرم $MnSO_4 \cdot H_2O$، ۸ میلی‌گرم $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$، ۵ میلی‌گرم $CuSO_4 \cdot 5H_2O$، ۰/۰۵ میلی‌گرم $CoCl_2 \cdot 6H_2O$، ۰/۲ میلی‌گرم KI، ۱۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۲۰۰ واحد بین المللی ویتامین D و ۲۰ واحد بین المللی ویتامینE فراهم شد.

در طول دوره آزمایش، جیره غذایی پس از توزین روزانه در دو نوبت (۸ صبح و ۶ بعد از ظهر) در اختیار بره‌ها قرار گرفت و جهت تعیین مقدار خوراک مصرفی، قبل از ریختن خوراک وعده صبح، باقیمانده خوراک روز قبل از آخور جمع‌آوری و ثبت شد. جهت بررسی تغییرات وزن بره‌ها، پس از تعیین وزن همه بره‌ها در ابتدای آزمایش، بره‌ها همچنین در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲، ۵۶ و ۷۰ با اعمال محرومیت قبلی (۱۴-۱۲ ساعت) از آب و خوراک، وزن‌کشی شدند.

علاوه بر روز شروع آزمایش، در روزهای ۳۵ و۷۰ نیز خونگیری به‌عمل آمد به‌طوری‌که قبل از نوبت غذایی صبح و با اعمال محدودیت غذایی ۱۲ تا ۱۴ ساعته از طریق ورید وداج از تمام بره‌ها خونگیری شد. خون گرفته شده در دو لوله جداگانه یکی حاوی هپارین برای بدست آوردن پلاسما و دیگری بدون هپارین جهت بدست

آوردن سرم ریخته شد. نمونه‌های خون پس از انتقال به آزمایشگاه، به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شده (با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه) و پلاسما یا سرم آنها جدا گردید. نمونه‌های پلاسما و سرم تا زمان اندازه‌گیری، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از نمونه-های روز صفر، ۳۵ و ۷۰ جهت اندازه‌گیری غلظت برخی مواد معدنی پلاسما (کلسیم، فسفر، روی، مس و آهن)، تری‌گلیسیرید، کلسترول، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم (LDL)، لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار کم (VLDL)، لیپوپروتئین‌های با چگالی زیاد (HDL)، غلظت هورمون‌های T_3 و T_4 سرم، فعالیت گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX) خون کامل استفاده شد.

فعالیت آنزیم GPX خون کامل با استفاده از کیت RANSEL (محصول شرکت RANDOX، انگلیس)، مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده کیت و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Varincary 100) اندازه‌گیری شد. میزان تری‌گلیسیرید، کلسترول، LDL، HDL، VLDL سرم خون نیز با استفاده از کیت‌های شرکت پارس‌آزمون و و با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Varincary 100) تعیین شد. همچنین غلظت هورمون‌های T_3 و T_4 سرم با استفاده از کیت شرکت پادتن گستر، توسط دستگاه الایزا ریدر (مدل ELX808، Bio-Tek) اندازه‌گیری شد. غلظت روی، آهن و مس پلاسما بعد از هضم طبق روش وسترما (۳۷)، توسط دستگاه جذب اتمی (مدل Variant spectrAA220) تعیین شد. غلظت کلسیم و فسفر پلاسما نیز توسط کیت‌های ساخت شرکت زیست شیمی مطابق با دستور سازنده کیت و با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Varincary 100) اندازه‌گیری شد.

بعد از پایان مرحله اول ۴ راس بره از هر تیمار به منظور بررسی اثر سطوح مختلف مکمل سلنیوم بر قابلیت هضم مواد مغذی انتخاب شد. بره‌ها در قفس‌های متابولیکی قرار گرفته و جهت سازگاری به شرایط جدید به مدت ۱۲ روز، با جیره مشابه با آزمایش اول و در سطح نگهداری تغذیه شدند. پس از آن، مرحله اصلی آزمایش آغاز شد و ۶ روز به طول انجامید. در این مرحله مقدار خوراک خورده شده، باقی‌مانده احتمالی خوراک و کل مدفوع طی ۲۴ ساعت به طور روزانه ثبت و از آنها نمونه‌برداری صورت گرفت. آب مصرفی نیز به صورت دستی و با ثبت مقدار مصرف روزانه در اختیار دام‌ها قرار گرفت. جهت تعیین ترکیب شیمیایی نمونه‌های خوراک و مدفوع (ماده خشک، پروتئین خام، خاکستر، چربی خام، و ماده آلی) از روش‌های AOAC (۱۹۹۰) استفاده شد. ان-دی-اف (فیبر نامحلول در شوینده خنثی) و ای-دی-اف (فیبر نامحلول در شوینده اسیدی) نیز به روش ون-سوست و همکاران (۳۴)، تعیین شد.

اندازه‌گیری غلظت روی، مس، سلنیوم، آهن و کلسیم در نمونه‌های خوراک، طبق روش وسترما (۳۷)، و با دستگاه جذب اتمی مدل (Variant spectrAA220) بود. در حالی‌که برای تعیین فسفر از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Varincary 100) و مقدار ازت نیز با استفاده از دستگاه کلدال تعیین شد. برای محاسبه مقدار گوارش پذیری مواد مغذی، مقدار دفع شده از مقدار خورده شده کم شد.

این پژوهش به صورت طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. به دلیل اینکه وزن اولیه بره‌ها در شروع آزمایش یکسان نبود، برای آنالیز داده‌ها از کوواریانس استفاده شد.

برای صفاتی مثل وزن بدن، خوراک مصرفی، ضریب تبدیل غذایی، گوارش‌پذیری مواد خوراکی از مدل آماری زیر استفاده شد:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Y_{ij} = مقدار مشاهده تیمار i ام در تکرار jام

μ = اثر میانگین

T_i = اثر تیمار iام

e_{ij} = اثرخطای آزمایش مربوط به تیمار iام در تکرار jام

صفات مربوط به غلظت تری‌گلیسیرید، کلسترول، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم و خیلی کم (LDL و VLDL)، لیپوپروتئین‌های با چگالی زیاد (HDL)، فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX) ، غلظت هورمون های T_3 و T_4 سرم و همچنین مقدار Ca، P، Zn، Fe و Cu پلاسمای خون، به صورت اندازه‌گیری های تکرار شده در چارچوب طرح کاملاً تصادفی تجزیه شدند که مدل‌های آماری آن در زیر نشان داده شده است:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + Ea_{i.k} + B_j + AB_{ij} + Eb_{ijk}$$

Y_{ijk} = مشاهده مربوط به تیمار i و زمان اندازه‌گیری j در تکرار k

μ = میانگین کلی مشاهده‌ها

A_i = اثر تیمار i

Ea_{ik} = اشتباه اصلی

B_j = اثر زمان اندازه‌گیری j

AB_{ij} = برهم‌کنش تیمار i و زمان اندازه‌گیری j

Eb_{ijk} = اشتباه فرعی

مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح احتمال خطای ۰/۰۵ انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS ویرایش ۹/۱ (SAS، ۲۰۰۴) صورت گرفت.

نتایج و بحث

اطلاعات مربوط به عملکرد بره‌ها از روز صفر تا ۷۰ آزمایش در جدول ۲ ارائه شده است. در تحقیق حاضر، افزودن سلنیوم در مقادیر ذکر شده، از نظر افزایش وزن روزانه، وزن نهایی، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی، تفاوت آماری معنی‌داری را بین تیمارها و گروه شاهد ایجاد نکرد ($P>0/05$). همسو با نتایج حاضر، وینولا و همکاران (۳۵) نیز تفاوت معنی‌داری در افزایش وزن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی بره‌های دریافت کننده ۰/۳ و ۰/۴۵ پی‌پی‌ام سلنیوم

(علاوه بر جیره پایه حاوی ۰/۱۳ پی‌پی‌ام سلنیوم) مشاهده نکردند. مقدار ۰/۱۵ و ۰/۳ پی‌پی‌ام سلنیوم به صورت سلنیت سلنیوم به جیره پایه حاوی ۰/۱۹ پی‌پی‌ام سلنیوم نیز تأثیری بر نرخ رشد و ضریب تبدیل غذایی بره‌های در حال رشد نداشت (۱۸). در مقابل، افزودن سلنیوم در تحقیق شی و همکاران (۳۲)، به میزان ۰/۳ پی‌پی‌ام به جیره پایه علوفه‌ای، حاوی ۰/۰۳ پی‌پی‌ام سلنیوم باعث افزایش وزن و مصرف خوراک روزانه بیشتر در بزها شد. دلیل این اختلاف را می‌توان از مقدار بیشتر سلنیوم جیره پایه در تحقیق حاضر (۰/۰۶ پی‌پی‌ام) و بهبود جذب سلنیوم با استفاده از جیره کنستانتره‌ای نسبت به علوفه‌ای (۱۴) دانست. به طور کلی با توجه به نتایج حاضر و مقایسه آنها با تحقیقات انجام شده می‌توان این گونه نتیجه گرفت که تفاوت در نتایج احتمالاً ناشی از مقدار سلنیوم در جیره پایه و نوع جیره می‌باشد.

در روز صفر تفاوت معنی‌داری بین تیمارها از نظر فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده وجود نداشت (P>۰/۰۵). بنابراین داده‌ها در جداول به صورت اندازه‌های تکرار شده و بدون در نظر گرفتن روز صفر آنالیز و ارائه شده‌اند. اثر زمان و اثر متقابل تیمار و زمان نیز برای فراسنجه‌ها معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

نتایج مربوط به غلظت عناصر روی (Zn)، مس (Cu)، آهن (Fe)، کلسیم (Ca) و فسفر (P) پلاسمای بره‌های مورد بررسی در این آزمایش در جدول ۳ ارائه شده است. تحقیقات اندکی به منظور بررسی اثر متقابل سلنیوم و سایر مواد معدنی در غلظت‌های توصیه شده، در نشخوارکنندگان انجام شده است و بیشتر تحقیقات نیز به صورت تزریق سلنیوم بوده که حذف اثرات احتمالی محیط شکمبه را به دنبال داشته است. افزودن سلنیوم، اثری بر غلظت کلسیم، فسفر، مس و روی پلاسما نداشت (P>۰/۰۵). در آزمایش کومار و همکاران (۱۸)، نیز استفاده از ۰/۱۵ و ۰/۳ پی‌پی‌ام سلنیوم به صورت سلنیت سدیم به جیره بره‌های پرواری، تأثیری بر غلظت کلسیم و فسفر پلاسمای خون نداشت که با نتایج ما سازگار است. با افزودن سلنیوم در مقدارهای ۰/۲ و ۰/۴ پی‌پی‌ام، تفاوت معنی‌داری در غلظت مس و روی پلاسما مشاهده نشد (P>۰/۰۵). نتایج حاضر با نتایج معینی و همکاران (۲۰)، در تلیسه‌های آبستن و مهری و همکاران (۲۱)، در بره‌های تازه متولد شده به دنبال تزریق سلنیوم همخوانی دارد. با این حال کریستالدی و همکاران (۵)، دریافتند که تجویز سلنیوم به گوسفندان چراگری که از مراتع مواجه با کمبود مس تغذیه می‌شدند باعث افزایش جذب مس و بهبود رشد شد.

در آزمایش حاضر، اثر افزودن سلنیوم در بر غلظت آهن پلاسما متمایل به معنی‌دار شدن بود (P<۰/۱۰). مقدار آهن در تیمارهای با مصرف سلنیوم، نسبت به گروه شاهد کمتر بود. کجوری و همکاران (۱۶) بیان کردند که تزریق مکمل سلنیومی به صورت سلنیت سدیم به بره‌ها، کاهش غلظت آهن سرم را بهمراه داشت. علت این امر را می‌توان به اثر سلنیوم در افزایش بیان ژن ترانسفرین به عنوان ناقل آهن به درون سلول نسبت داد (۱۶). به علاوه مهری و همکاران (۲۱)، با تزریق مکمل سلنیومی به بره‌ها مشاهده نمودند که با وجود کاهش عددی غلظت آهن پلاسما نسبت به تیمار شاهد این تفاوت معنی‌دار نشد.

با دقت به جدول ۴ ملاحظه می‌شود که دریافت سلنیوم اثری بر غلظت تری گلیسیرید (TG) و کلسترول (CHOL) نداشت (P>۰/۰۵). نتایج تحقیق حاضر با مشاهدات کومار و همکاران (۱۷ و ۱۸)، در بره‌هایی که مقدار ۰/۱۵ و ۰/۳ پی‌پی‌ام سلنیوم مصرف کرده بودند، و موگال و همکاران (۲۲)، در گاومیش‌های جوان مصرف کننده ۰/۳ پی‌پی‌ام سلنیوم، همسو بود. این در حالی‌ست که ابراهیمی و همکاران (۷)، در تحقیق خود با تأمین مقدار ۰/۳ پی‌پی‌ام سلنیوم به مدت ۶۰ روز در گوساله‌های شیرخوار یک ماهه دریافتند که غلظت کلسترول پلاسمای گوساله‌ها کاهش یافت و کاهش غلظت کلسترول در تیمارهای با مکمل سلنیوم را به افزایش مقدار هورمون T_3 نسبت دادند.

جدول ۲- مقایسه میانگین مربوط به عملکرد بره‌های نر مهربان در تیمارهای آزمایشی

تیمار	میانگین وزن اولیه (کیلوگرم)	میانگین افزایش وزن روزانه (کیلوگرم در روز)	میانگین وزن نهایی (کیلوگرم)	میانگین خوراک مصرفی روزانه (کیلوگرم در روز)	ضریب تبدیل غذایی (خوراک به افزایش وزن)
گروه شاهد	۳۵/۲۶	۰/۲۴۱	۵۲/۱۲	۱/۵۵۷	۶/۶۰۸
۰/۲ سلنیوم	۳۶/۳۵	۰/۲۵۹	۵۳/۸۴	۱/۶۵۳	۶/۴۳۳
۰/۴ سلنیوم	۳۶/۱۵	۰/۲۴۹	۵۳/۲۵	۱/۶۰۵	۶/۵۳۳
SEM	۱/۱۷۵	۰/۰۱۳	۱/۶۱	۰/۱۸۱	۰/۳۳۵
اثر تیمار	۰/۷۹۸	۰/۶۰۶	۰/۷۸۹	۰/۵۱۱	۰/۹۳۴
P وزن اولیه	–	۰/۸۹۹	–	–	–

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ۳- غلظت روی، مس، آهن، کلسیم و فسفر پلاسما (میلی‌گرم در لیتر) در تیمارهای آزمایشی

تیمار / فاکتور	مس	روی	آهن	کلسیم	فسفر
گروه شاهد	۰/۶۷۷	۱/۲۴	۱/۹۱	۱۱۵/۱۰	۶۷/۰۳
۰/۲ سلنیوم	۰/۶۹۵	۱/۲۲	۱/۷۵	۱۱۵/۷۸	۶۶/۲۳
۰/۴ سلنیوم	۰/۷۶۸	۱/۲۰	۱/۶۹	۱۱۵/۰۲	۶۸/۶۷
SEM	۰/۰۹۱	۰/۰۴	۰/۰۶۷	۴/۳۰	۲/۱۴
اثر تیمار	۰/۸۰۱	۰/۸۰۵	۰/۰۷۹	۰/۹۹۰	۰/۷۱۹
P زمان	۰/۱۴۰	۰/۹۹۰	۰/۷۳۷	۰/۵۸۰	۰/۷۷۶
P تیمار× زمان	۰/۸۴۱	۰/۹۸۵	۰/۹۷۶	۰/۹۵۵	۰/۱۲۹

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

مشخص شده است که افزودن هورمون T_3 به موش‌های مواجه با کمبود سلنیوم باعث کاهش ۵۷ درصدی غلظت کلسترول سرم خون می‌شود و به نظر می‌رسد که غلظت کلسترول سرم خون با اثر هورمون‌های تیروئیدی بر کبد کنترل می‌شود (۲۹). در تحقیق حاضر افزودن مکمل سلنیومی، افزایش معنی‌دار غلظت هورمون T_3 را به دنبال داشت ولی اثر قابل توجهی بر غلظت کلسترول خون ایجاد نکرد که می‌تواند به نوع و سن دام مورد مطالعه و همچنین مقدار سلنیوم در جیره پایه مرتبط باشد. همچنین گابریزوک و همکاران (۹)، بیان نمودند که در بره‌های دریافت کننده سلنیوم، غلظت کلسترول پلاسما پایین‌تر از بره‌های تیمارهای دیگر بود ولی غلظت تری‌گلیسرید تغییر محسوسی نداشت. ایزوکا و همکاران (۱۰)، نیز اثر سلنیوم را بر متابولیسم لیپید در موش‌های تغذیه شده با مقادیر زیاد کلسترول بررسی نموده و گزارش داده‌اند که سلنیوم باعث کاهش غلظت تری-گلیسرید وکلسترول در سرم شد. در تحقیق حاضر کاهش عددی در غلظت LDL سرم خون بره‌های دریافت‌کننده سلنیوم مشاهده شد، هرچند این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). این مطلب را می‌توان با توجه به نتایج تحقیق کیو و همکاران (۲۷)، توجیه کرد. این محققین دریافتند که کمبود سلنیوم در موش، افزایش میزان کلسترول و LDL پلاسمای خون را به دنبال دارد و دلیل این امر را به افزایش فعالیت آنزیم بتاهیدروکسی- بتامتیل-گلوتاریل-کوآ رداکتاز که آنزیم تنظیم کننده بیوسنتز کلسترول در پستانداران می باشد نسبت دادند. کانشانا و جیانتی (۱۳)، نیز بیان نمودند که در جوجه‌های تخمگذار دریافت کننده سلنیوم نسبت به گروه شاهد غلظت LDL کمتر شد ولی غلظت HDL تغییری نکرد. همچنین فالکوسکا و همکاران (۸)، نشان دادند که افزودن سلنیوم و ویتامین E باعث افزایش غلظت HDL در خون گاوها شد که احتمالاً ناشی از اثر ویتامین E بوده است. به طور کلی نتایج حاضر نشان می‌دهد که استفاده از سلنیوم اثر معنی‌داری بر فراسنجه‌های لیپیدی سرم خون بره‌های نر مهربان ندارد.

ارتباط مستقیمی بین غلظت سلنیوم و فعالیت گلوتاتیون‌پراکسیداز در خون وجود دارد و فعالیت این آنزیم بعنوان شاخص مهمی برای وضعیت سلنیوم دام در نظر گرفته می‌شود (۲۵). نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز خون در جدول ۵ ارائه شده است. افزودن مکمل سلنیوم به جیره در مطالعه حاضر، باعث افزایش فعالیت GPX شد (P<۰/۰۰۱). مطابق با نتایج حاضر، کین و همکاران (۲۶)، با افزودن مقدار ۰/۱ پی‌پی‌ام سلنیوم به جیره پایه حاوی ۰/۰۶ پی‌پی‌ام سلنیوم بصورت آلی و معدنی در بره‌های پرواری، رونتری و همکاران (۲۸)، با استفاده از شربت سلنیوم از منبع سلنیت‌سدیم به صورت هفتگی به گاوهای هرفورد به میزان ۲۰ میلی‌گرم و بک و همکاران (۴)، در گوساله‌های حاصل از گاوهای دریافت کننده ۰/۲۶ پی‌پی‌ام سلنیوم، افزایش در فعالیت GPX را گزارش نموده‌اند. کومار و همکاران (۱۸)، نیز با افزودن مقدار ۰/۱۵ پی‌پی‌ام سلنیوم به جیره پایه حاوی ۰/۱۹ پی‌پی‌ام سلنیوم افزایش در فعالیت GPX گلبول‌های قرمز را گزارش نمودند.

جدول ٤- غلظت متابولیت های چربی سرم (میلی‌گرم در دسی لیتر) در تیمارهای آزمایشی

تیمار / فاکتور	TG	CHOL	HDL	LDL	VLDL
گروه شاهد	۴۲/۸۵	۷۲/۳۳	۳۴/۳۸	۳۰/۵۵	۷/۴۱
۰/۲ سلنیوم	۳۹/۳۲	۷۲/۰۸	۳۷/۲۴	۲۶/۰۶	۷/۸۷
۰/۴ سلنیوم	۳۷/۰۱	۶۸/۰۸	۳۹/۹۴	۲۰/۹۱	۸/۵۷
SEM	۱/۹۹	۴/۲۰	۲/۶۳	۲/۳۵	۰/۳۹۸
اثر تیمار	۰/۱۴۷	۰/۷۲۹	۰/۳۵۳	۰/۰۹۱	۰/۱۵۲
P زمان	۰/۶۳۳	۰/۸۶۵	۰/۶۹۰	۰/۹۰۲	۰/۶۴۶
P تیمار × زمان	۰/۹۷۰	۰/۸۰۵	۰/۱۵۵	۰/۵۴۰	۰/۹۷۰

TG،CHOL، HDL، LDL و VLDL به ترتیب عبارتند از: تری‌گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین‌های با چگالی زیاد، لیپوپروتئین‌های با چگالی کم و لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی کم.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

دریافت مقدار بیشتر سلنیوم با افزایش عددی فعالیت GPX خون همراه بود. با در نظر گرفتن این مطلب که سلنیوم جزء سازنده آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز است و رابطه خطی مستقیمی بین مقدار سلنیوم خون و فعالیت این آنزیم وجود دارد (r =۰/۹۵۸) نتیجه فوق منطقی به نظر می‌رسد (۲۵).

افزودن مکمل سلنیوم، تفاوت معنی‌دار غلظت T_4، T_3 و نسبت T_4 به T_3 سرم بره های دریافت کننده مکمل و گروه کنترل را بهمراه داشت (جدول ۵). بطوری‌که تیمارهای دریافت‌کننده مکمل سلنیوم نسبت به تیمار شاهد، غلظت بالاتری از لحاظ T_3 و غلظت کمتری از لحاظ T_4 و نسبت T_4 به T_3 داشتند (P<۰/۰۵). مشابه با نتایج تحقیق حاضر، ویتل و همکاران (۳۸)، در گوساله‌هایی که سلنیوم را به صورت کپسول درون شکمبه‌ای دریافت کرده بودند، و آرتور و همکاران (۳)، در گوساله‌های پرواری تأمین شده با مقدار ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک سلنیوم نیز افزایش قابل ملاحظه‌ای در غلظت T_3 و کاهش در T_4 را گزارش داده‌اند. در مقابل نتایج آزمایش حاضر، کومار و همکاران (۱۷ و ۱۸) به ترتیب با افزودن مقدار ۰/۱۵ پی‌پی‌ام سلنیوم به صورت سلنیت‌سدیم و سلنومتیونین به مدت ۹۰ روز و افزودن ۰/۱۵ و ۰/۳ پی‌پی‌ام سلنیوم به صورت سلنیت‌سدیم طی سه ماه به جیره بره‌های پرواری، تغییری در غلظت T_3، T_4 و نسبت این دو هورمون مشاهده نکردند. البته می‌توان دلیل این امر را ناشی از بیشتر بودن مقدار سلنیوم جیره پایه (۰/۱۹ پی‌پی‌ام) در تحقیق آنها نسبت به آزمایش حاضر (۰/۰۶ پی‌پی‌ام) دانست. تأمین ۰/۳ پی‌پی‌ام سلنیوم در تحقیق موگال و همکاران (۲۲) در گاومیش نیز تغییری در فراسنجه‌های ذکر شده ایجاد نکرد. ارتباط بین سلنیوم و غده تیروئید نه تنها مرتبط با فعالیت پراکسیدازها در محافظت از تیروئید و سنتز هورمون‌های تیروئیدی است، بلکه با فعالیت دیدینازها که سلنوآنزیم‌های مسئول کاتالیز تبدیل T_4 به شکل فعال‌تر متابولیکی آن (T_3) می‌باشند نیز مرتبط است (۱). دلیر و همکاران (۶)، گزارش نمودند که غلظت T_3 سرم و نسبت T_3 به T_4 در بره‌های دچار بیماری تحلیل ماهیچه‌ای نسبت به بره‌های سالم کمتر است. بنابراین نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که افزودن سلنیوم (صرف نظر از مقدار آن) سبب بهبود تبدیل T_4 به T_3 شده است. همچنین افزودن ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم، نیاز بره‌های در حال رشد را تأمین می‌کند.

تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مکمل شده با سلنیوم و گروه شاهد از نظر گوارش‌پذیری موادمغذی خوراک مشاهده نشد (جدول ۶) که در توافق با نتایج کومار و همکاران (۱۸)، می‌باشد. این محققین نیز با استفاده از مقدارهای ۰/۱۵ و ۰/۳ پی‌پی‌ام سلنیوم به صورت سلنیت‌سدیم تفاوت قابل توجهی را گزارش ندادند. همچنین ایوانسیچ و ویس (۱۱)، در گاوهای شیری هلشتاین، با استفاده از ۰/۳ پی‌پی‌ام سلنیوم معدنی تفاوتی را مشاهده ننمود. اما بر اساس گزارش وانگ و همکاران (۳۶)، افزودن سلنیوم آلی در سطوح ۰/۱۵ ، ۰/۳ و ۰/۴۵ پی‌پی‌ام به جیره پایه حاوی ۰/۰۷ پی‌پی‌ام سلنیوم در گاوهای شیری، افزایش گوارش‌پذیری مواد مغذی ذکر شده را به دنبال داشته است. این محققین علت این امر را به افزایش تخمیر شکمبه‌ای در نتیجه افزایش مقاومت و فعالیت میکروارگانیسم‌ها به ویژه باکتری‌های سلولولایتیک نسبت دادند. تفاوت مشاهده شده را می‌توان به نوع مکمل استفاده شده نسبت داد زیرا مشخص شده است که بخشی زیاد از سلنیوم معدنی در شکمبه به شکل نامحلول می‌شود (۳۳).

نتیجه گیری

بطور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که از لحاظ عملکرد، غلظت عناصر کلسیم، فسفر، روی و مس پلاسما، همچنین ترکیبات لیپیدی سرم خون و قابلیت هضم مواد مغذی تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای دریافت کننده مقدار ۰/۲ پی‌پی‌ام و ۰/۴ پی‌پی‌ام سلنیوم و گروه شاهد وجود نداشت.

جدول ۵- میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) خون کامل و غلظت هورمون های تیروئیدی سرم خون (نانومول بر لیتر) در تیمارهای آزمایشی

تیمار / فاکتور	GPX(U/gHb)	T_3	T_4	T_4/T_3
گروه شاهد	^{b}۲۴۹/۳	^{b}۱/۴۸	^{a}۸۵/۱۰	^{a}۵۷/۷۴
۰/۲ سلنیوم	^{a}۴۱۲/۷	^{a}۱/۶۳	^{b}۷۶/۰۰	^{b}۴۶/۸۸
۰/۴ سلنیوم	^{a}۴۶۴/۸	^{a}۱/۶۶	^{b}۷۳/۵۰	^{b}۴۴/۷۱
SEM	۲۲/۱	۰/۰۴	۲/۶۶	۲/۴۲
اثر تیمار	۰/۰۰۰۳	۰/۰۲۲	۰/۰۱۸	۰/۰۱۴
P زمان	۰/۱۵۳	۰/۷۵۴	۰/۱۸۲	۰/۲۹۱
P تیمار× زمان	۰/۷۲۴	۰/۹۷۵	۰/۸۶۷	۰/۹۷۵

حروف غیر مشابه درهر ستون ازهر بخش نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.
SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

اما کاهش معنی‌داری در غلظت هورمون تترایدوتیرونین (T_4) و افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX) خون کامل و غلظت هورمون تری‌یدوتیرونین (T_3) سرم مشاهده شد. به نظر می‌رسد که با سطح ۰/۲ پی‌پی‌ام سلنیوم علاوه بر جیره پایه حاوی ۰/۰۶ پی‌پی‌ام سلنیوم، نیاز بره‌های در حال رشد مهربان، تأمین می‌شود.

جدول ٦- اثر افزودن مکمل سلنیوم بر درصد گوارش پذیری ظاهری مواد مغذی جیره

تیمار	ماده خشک	ماده‌آلی	چربی‌خام	ان-اف-سی	پروتئین خام	ان-دی-اف	ای-دی-اف
گروه شاهد	۶۸/۹۹	۷۲/۸۱	۶۱/۷۹	۸۹/۳۶	۶۷/۵۲	۵۰/۵۴	۳۴/۰۱
۰/۲ سلنیوم	۷۱/۰۳	۷۳/۷۲	۶۱/۲۲	۹۱/۶۲	۶۸/۹۷	۵۳/۴۵	۳۳/۸۵
۰/۴ سلنیوم	۶۸/۵۲	۷۴/۲۱	۶۲/۳۱	۹۰/۴۹	۶۷/۷۲	۵۵/۲۵	۳۳/۷۷
SEM	۱/۴۳	۱/۷۱	۱/۷۴	۲/۷۶	۱/۳۲	۱/۱۹	۱/۳۲
اثر تیمار	۰/۴۳۹	۰/۲۱۰	۰/۹۰۹	۰/۸۴۸	۰/۳۹۲	۰/۱۳۶	۰/۳۳۸

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

منابع

1- Abd ElGhany Hefnawy, J. L. and Tortora-Perez. 2010. The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. Small Rum Res. 89:185-192.
2- AOAC. 1990. Official methods of analysis 15th edition. Association of official analytical chemist, Arlington, U.S.A.
3- Arthur, J. R. 1988. "Effects of selenium and vitamin E status on plasma creatine kinase activity in calves". J Nutr. 118, 747–755.
4- Beck, P. A., T. J. Wistuba, M. E. Davis, and S. A. Gunter. 2003. Effect of selenium supplementation of beef cows on immune responses of weaned beef calves. J Anim Sci. 81 (Suppl. 2), 8 (Abs. 67).
5- Cristaldi, L. A., L. R. McDowell, C. D. Buergelt, P. A. Davis, N. S. Wilkinson, and F. G. Martin. 2005. Tolerance of inorganic selenium in wether sheep. Small Rum Res. 56:205-213.
6- Dalir-Naghadeh, B., and S. A. Rezaei. 2008. Assessmant of serum thyroid hormone concentrations in lambs with selenium deficiency myopathy. Am J Vet Res. 69:659-663.
7- Ebrahimi, M., A. Towhidi, and A. Nikkhah. 2009. Effect of organic selenium (sel-plex) on thermometabolism, blood chemical composition and weight gain in holstein suckling calves. Asian Aust J Anim Sci. 7:984-992.
8- Falkowska, A., D. Minakowski, and J. Tywonczuk. 2000. The effect of supplementing rations with selenium and vitamin E on biochemical parameters in blood and performance of cows in the early stage of lactation. J Anim Feed Sci, 9:271-282.
9- Gabryszuk, M., M. Czauderna, A. Baranowski, N. Strzałkowska, A. Jozwik1, and J. Krzyzewski. 2007. The effect of diet supplementation with Se, Zn and vitamin E on cholesterol, CLA and fatty acid contents of meat and liver of lambs. Anim Sci Pap and Rep 1:25-33.
10- Iizukay Sakurai, E., and Y. Tanaka. 2001. Effect of selenium on serum, hepatic and lipoproteins lipids concentration in rats fed on a highcholesterol diet. Yakugaku Zasshi, 121:93-96.
11- Ivancic, J., and W. J. Weiss. 2001. Effect of dietary sulphur and selenium concentrations on selenium balance of lactating Holstein cows. J Dairy Sci. 84:225-232.
12- Juniper, D. T., R. H. Phipps, A. K. Jones, and G. Bertin. 2006. Selenium supplementation of lactating dairy cows: effect on selenium concentration in blood, milk, urine and feces. J Dairy Sci. 89:3544-3551.
13- Kanchana, G. and G. P. Jeyanthi. 2010. The effect of supplementation of diet with vitamin E and selenium and their combinations on the performance and lipid profiles of layer chicken. International Journal of Pharma and Bio Sciences. 1:1-11.
14- Koenig, K. M., L. M. Rode, R. D. H. Cohen, and W. T. Buckley. 1997. Effects of diet and chemical form of selenium metabolism in sheep. J Anim Sci. 75:817-827.
15- Kojouri, G. A. and A. Shirazi. 2007. Serum concentration of Cu, Zn, Fe, Mo, and Co in newborn lambs folloing systemic administration of Vitamin E and selenium to the pregnant ewes. Small Rum Res. 70:136-139.
16- Kojouri, G. A., S. Jahanabadi, M. Shakibaie, A. M. Ahadi, and A. R. Shahverdi. 2011. Effect of selenium supplementation with sodium selenite and selenium nanoparticles on iron homeostasis and transferring gene expression in sheep: A preliminary study, Research in Veterinary Science.
17- Kumar M., A. K, Garg, R. S. Dass, V. K. Chaturvedi, V. Mudgal, and V. P. Varshney. 2009. Selenium supplementation influences growth performance, antioxidant status and immune response in lambs. Anim Feed Sci

Tech. 153:77-87.
18- Kumar, N., A. K. Garg, and V. Mudgal. 2008. Effect of different levels of selenium supplementation on growth rate, nutrient utilization, blood metabolic profile, and immune response in lambs. Biol Trace Elem Res.126:S44-56.
19- Moeini, M. M. Karami, and E. Mikaeili. 2009 . Effect of Selenium and Vitamin E Supplementation during Late Pregnancy on Se Status, and Reproduction Indices. Anim Rep Sci. 114(1-3): 109-114.
20- Moeini, M. M., Kiani, A., Karami, H. and Mikaeili, E. 2011. "The effect of selenium administration on the selenium, copper, iron and zinc status of pregnant heifers and their newborn calves". J Agri Sci and Tech 13:53-59.
21- Mohri, M., A. Ehsani, M. A. Norouzian, M. Heidarpour, and H. A. Seifi. 2011. Parenteral selenium and vitamin E supplementation to lambs: hematology, serum biochemistry, performance, and relationship with other trace elements. Biol Trace Elem Res.139:308-316.
22- Mudgal, V., A. K. Garg, R. S. Dass, and V. P. Varshney. 2008. Effect of selenium and copper supplementation on blood metabolic profile in male buffalo (Bubalus bubalis) calves. Biol Trace Elem Res.121:31-38.
23- NRC. 1985. Nutrient Requirements of Sheep, 5th edn. National Academy of Sciences, Washington, DC.
24- NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. National Academy Press,Washington, DC.
25- Puls, R. 1994. Mineral Levels in Animal Health: Diagnostic Data 2nd ed. Sherpa International, Clear Book. P.356.
26- Qin, S. J. Gao, and K. Huang. 2007. Effects of different selenium sources on tissue selenium concentrations, blood GSH-Px activities and plasma interleukin levels in finishing lambs. Biol Trace Elem Res. 116:91-102.
27- Qu, X., K. Huang, L. Deng, and H. Xu. 2000. Selenium deficiency-induced alternations in the vascular system of the rat. Biol Trace Elem Res. 75:119-128.
28- Rowntree, J. E., G. M. Hill, D. R. Hawkins, J. E. Link, M. J. Rincker, G. W. Bednar, and M. J. Kreftjr. 2004. Effect of Se on selenoprotein activity and thyroid hormone metabolism in beef and dairy cows and calves. J Anim Sci. 82:2995-3005.
29- Roy, E., Y. Murata, K. Cua, Y. Hayashi, H. Seo, and S. Refetoff. 1998. Thyroid hormone action on liver, heart, and energy expenditure in thyroid hormone receptor b-deficient mice. The Endocrine Society. 139:12.
30- SAS Institute. 2004. User's Guide. Version 9.1: Statistics. SAS Institute, Cary, NC.
31- Serra, A. B., K. Nakamura, T. Matsui, T. Harumoto, and R. I. Fujihara. 1994. Inorganic selenium for sheep: II. Its influence on rumen bacterial yield, volatile fatty acid production and total tract digestion of timothy hay. Asian Aust J Anim Sci. 7:91-96.
32- Shi, L., W. Xun, W. Yue, C. Zhang, Y. Ren, Q. Liu, Q. Wang, and L. Shi. 2011. Effect of sodium selenite, Se-yeast and nano-elemental selenium on growth performance, Se concentration and antioxidant status in growing male goats. Small Rum Res. 96:49-52.
33- Spears, J. W. 2003. Trace mineral bioavailability in ruminants". J Nutr. 133:1506-1509.
34- Van soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber,and non-starch polysaccharides in relation to animsl nutrition. J Dairy Sci. 74:3583-3592.
35- Vignola, G., L. Lambertini, G. Mazzone, M. Giammarco, M. Tassinari, G. Martelli, and G. Bertin. 2009. Effects of selenium source and level of supplementation on the performance and meat quality of lambs. Meat Sci. 81:678-685.
36- Wang, C., Q. Liu, W. Z. Yang, Q. Dong, X. M. Yang, D. C. He, P. Zhang, K. H. Dong, and Y. X. Huang. 2009. Effects of selenium yeast on rumen fermentation, lactation performance and feed digestibilities in lactating dairy cows. Livestock Science. 126:239-244.
37- Westterma, L. R. and F. Constabel. 1982. Plant tissue culture metbods 2deev. Ed. Sasatoon: National Research Council of Canada, Prairie Regional Laboratory.
38- Wichtel, J. J., A. L. Craigie, D. A. Freeman, H. Varela-Alvarez, and N. B. Wiiiamson. 1996. Effect of selenium and iodine supplementation on growth rate and on thyroid and somatotrophic function in dairy calves at pasture. J Dairy Sci. 79:1865-1872.