

## تأثیر اشکال مختلف سلنیوم بر فراسنجه‌های تولید گاز، تخمیر شکمبه و جمعیت پروتوزوای شکمبه

سمیرا دهقانی<sup>1</sup>، اکبر تقی زاده<sup>2\*</sup>، حمید محمدزاده<sup>3</sup>

تاریخ دریافت: 1396/08/12

تاریخ پذیرش: 1397/01/22

### چکیده

تحقیق حاضر به منظور ارزیابی اثر اشکال مختلف سلنیوم بر تولید گاز، تخمیر شکمبه و جمعیت پروتوزوای شکمبه گوسفندان قزل گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل 1. کنسانتره بدون مکمل سلنیوم 2 کنسانتره +0/3 ppm نانو سلنیوم 3. کنسانتره +0/3 ppm سلنیوم آلی و 4. کنسانتره +0/3 ppm سلنیوم معدنی بودند. در روش تولید گاز 300 میلی‌گرم از هر نمونه در ساعات 2، 4، 6، 8، 12، 16، 24، 36، 48، 72 و 96 انکوباسیون گردید. به منظور بررسی تأثیر اشکال مختلف سلنیوم بر اکوسیستم شکمبه، فاکتورهای pH، اسیدهای چرب فرار، نیتروژن آمونیاکی و جمعیت پروتوزوایی مورد بررسی قرار گرفت. از ساعت 36 انکوباسیون به بعد میزان تولید گاز تیمارهای حاوی سلنیوم به طور معنی داری بیشتر از تیمار کنترل بود، اما تفاوت معنی داری از نظر تولید گاز بین این 3 تیمار وجود نداشت. پتانسیل تولید گاز در تیمارهای حاوی سلنیوم از تیمار کنترل بیشتر بوده (به ترتیب 321/7، 344/0، 201/9 و 319/8 میلی لیتر در تیمارهای شاهد، سلنیوم نانو، آلی و معدنی) ولی تفاوت معنی داری بین تیمارهای حاوی انواع مختلف سلنیوم وجود نداشت. تفاوت معنی داری بین تیمارها از نظر pH شکمبه وجود نداشت. تیمار نانو به طور معنی داری موجب افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار نسبت به تیمارهای آلی و معدنی شد (به ترتیب 98/00، 109/83، 89/83 میلی مول بر لیتر در تیمارهای سلنیوم نانو، آلی و معدنی). تفاوت معنی داری بین تیمارها از نظر میزان نیتروژن آمونیاکی شکمبه وجود نداشت. تیمار سلنیوم آلی موجب افزایش معنی دار تعداد کل پروتوزوای نسبت به تیمار سلنیوم معدنی و نانو سلنیوم شد. نتایج تحقیق نشان داد که افزودن مکمل سلنیوم خصوصاً به شکل نانو نسبت به فرم رایج معدنی آن، احتمالاً از طریق بهبود فرآیند تخمیر در محیط شکمبه، موجب افزایش پتانسیل تولید گاز شد.

واژه‌های کلیدی: تولید گاز، سلنیوم، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه، گوسفند، نانو

### مقدمه

معدنی کم مصرف و پرمصرف از اهمیت بالایی برخوردار میباشند. در میان عناصر کیمیا و کم مصرف معدنی، عنصر سلنیوم از اهمیت خاصی برخوردار است که برای سلامتی، ایمنی و عملکرد تولیدی بهینه حیوانات ضروری است (3 و 26). ابتدا تصور می‌شد که سلنیوم یک عنصر سمی بوده و بیشتر تحقیقات نیز بر مبنای سمیت آن بود. بعدها مشخص شد که این عنصر جزئی از یک آنزیم ضروری به نام گلوکوتاتیون پراکسیداز (GPX) است که در تجزیه و دفع مواد سمی به کبد کمک می‌کند (26). کمبود سلنیوم میتواند تولید را کاهش داده و سلامت دام را به مخاطره اندازد (24).

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 سلنومیتونین (SeMet) و سلنوسیسستین (SeCys) دو شکل آلی این عنصر را تشکیل می‌دهند. اندازه ریز ذرات مواد معدنی باعث تسریع در جذب و ورود آن به سلولهای بدن شده و به این ترتیب زیست فراهمی این

تولید بهینه و تداوم سلامتی در دام و طیور، نیازمند تامین مواد مغذی ضروری به شکل قابل دسترس و در مقادیر کافی در بدن میباشد. بیشتر خوراک‌هایی که عموماً 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. با توجه به اهمیت و نقش مواد معدنی در تغذیه دام‌ها، شناخت وضعیت عناصر معدنی در مواد غذایی امری ضروری به نظر می‌رسد. در بین مکمل‌های خوراکی، مواد

- 1- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه تبریز
- 2- استاد گروه علوم دامی دانشگاه تبریز (نویسنده مسئول)
- 3- استادیار گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

(ataghius@yahoo.com)

\* - نویسنده مسئول:

Doi:10.22067/ijasr.v11i3.68454

خوراکی به اسیدهای چرب فرار است، می‌تواند برآوردی از قابلیت هضم ظاهری باشد (4) و بطور دقیقی با مقدار و نسبت استات و بوتیرات نیز مرتبط می‌باشد. بنابراین نسبت اسیدهای چرب فرار هم روی حجم گاز تولیدی اثر می‌گذارد، زیرا فقط تخمیر ماده خوراکی به استات و بوتیرات است که تولید گاز کربنیک و در نتیجه گاز متان می‌کند و بخش اعظم حجم گاز تولیدی را این گازها شامل می‌شوند که بطور مستقیم از تخمیر نشأت می‌گیرند. تخمیر مواد سریع التخمیر احتمالاً منجر به تولید نسبت بیشتری از پروپیونات می‌شود. این امر می‌تواند باعث کاهش در تولید گاز به ازاء هر واحد اسید چرب فرار تولید شده منجر گردد (18). تحقیق حاضر به منظور ارزیابی اثر اشکال مختلف سلنیوم بر خصوصیات هضمی کنسانتره، با استفاده از روش تولید گاز انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

### حیوان و محل آزمایش

اجرای مراحل مختلف مزرعه ای و آزمایشگاهی به ترتیب در واحد گوسفندداری ایستگاه تحقیقات کشاورزی خلعت پوشان دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز و آزمایشگاه تغذیه دام پیشرفته واقع در ساختمان تحصیلات تکمیلی دانشگاه تبریز صورت گرفت. جهت انجام آزمایش تولید گاز و اندازه گیری پارامترهای تخمیری، از چهار راس گوسفند نر قزل (با وزن  $43/0 \pm 4/8$  کیلوگرم) فیستوله گذاری شده استفاده شد. گوسفندها به مدت یک ماه پس از جراحی مورد مراقبت قرار گرفتند 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 40:60 دو بار در روز به طوری که قادر به تامین احتیاجات نگهداری باشند دریافت می‌کردند. تیمارهای آزمایشی شامل 1. کنسانتره بدون مکمل سلنیوم 2. کنسانتره  $0/3 \text{ ppm}+$  سلنیوم از نوع نانو سلنیوم 3. کنسانتره  $0/3 \text{ ppm}+$  سلنیوم از نوع سلنومیتونین و 4. کنسانتره  $0/3 \text{ ppm}$  سلنیوم از نوع سلنیت سدیم بودند. جهت سنتز نانو ذرات سلنیوم از روش گرمایی چن و همکاران (7) استفاده شد. سلنومیتونین نیز با نام تجاری سایتوپلکس سلنیوم تهیه شد. تیمارهای آزمایشی از نظر نوع انرژی و پروتئین و محتوی NDF علوفه‌ای مشابه بوده و تنها اختلاف آنها در نوع سلنیوم مورد استفاده در آنها بود.

### آنالیز شیمیایی

تجزیه تقریبی مواد غذایی شامل میزان ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر خام بر اساس روش‌های AOAC (2) و دیواره سلولی، دیواره سلولی بدون همی سلولز با روش ون سوست و همکاران

مواد معدنی بالاتر خواهد بود (14 و 25). لذا ترکیبات آلی و نانوسلنیوم نسبت به معدنی جذب و زیست فرآهمی بیشتری داشته و در بین اشکال معدنی نیز فرم سلنات نیز به سلنیت به میزان بیشتری جذب می‌شود (14 و 25). سلنیوم آلی و نانوسلنیوم از طریق انتقال فعال، سلنیت از طریق انتشار غیرفعال و سلنات به واسطه ناقل‌های سدیم به همراه گوگرد جذب می‌شوند. سلنیوم دارای اثر حفاظتی بر پروتوزوآهای شکمبه‌ای است و موجب افزایش بقا و فعالیت آنها می‌شود (9). نظیراوغلو و آکساکول (20 و 21) افزایش جمعیت پروتوزوآهای مؤکدار موجود در شکمبه را با افزودن سلنیوم به جیره گزارش کردند. وانگ و همکاران (28) کاهش نیتروژن آمونیاکی را با استفاده از مخمر سلنیومی در گاوهای شیری گزارش کردند. ایشان همچنین بهینه رشد میکروبی و بیشترین مقدار تولید اسیدهای چرب فرار در گاوهای شیری را با افزودن مقدار  $0/3$  پی‌پی‌ام سلنیوم به جیره مشاهده نمودند (6).

زون و همکاران (29)، گزارش نمودند که میانگین مقادیر pH شکمبه و نسبت استات به پروپیونات در گوسفندان تغذیه شده با نانو سلنیوم در مقایسه با حیوانات دریافت کننده سلنیوم آلی و جیره شاهد پایین تر بود.

بیماری عضله سفید<sup>1</sup> (WMD) اولین ناهنجاری شناخته شده مرتبط با کمبود سلنیوم در دام می‌باشد که باعث مرگ نوزادان تازه متولد شده و آسیب به روند تولید در دام‌های جوان و بالغ به ویژه در نشخوارکنندگان می‌شود (1).

دو عامل مهم شناخت و ارزیابی مواد خوراکی و نیز تعیین نیازمندیهای غذایی دامها روی تولید بیشتر و اقتصادی مؤثر هستند. قابلیت هضم یک ماده غذایی یا جیره غذایی با روشهای مستقیم استفاده از حیوان زنده (*in vivo*) و روش آزمایشگاهی (*in vitro*) قابل اندازه‌گیری است. ارزیابی میزان مصرف خوراک و قابلیت هضم خوراک با روش استفاده از حیوان زنده بسیار وقت گیر، دشوار، پرهزینه، نیاز به مقدار زیاد خوراک و غیر مناسب جهت ارزیابی برای انواع زیاد خوراک می‌باشد. ارتباط نزدیک بین تخمیر شکمبه‌ای با تولید گاز از قبل گزارش شده است (9). با این حال اگر خوراکی در شرایط درون تنی آزمایش نشود، داده‌های بیرون تنی آن به تنهایی ارزش کاربردی نخواهد داشت. روش تولید گاز به خاطر سادگی روش کار، کمتر بودن عوامل ایجاد کننده خطا، نیاز به تعداد کمتر نمونه و همچنین سرعت عمل و تولید اطلاعات اضافی می‌تواند تکمیل کننده و جایگزین مناسبی برای روش *in vivo* باشد (9). تطابق مناسب حجم گاز تولیدی با فراسنجه‌های حاصل از مطالعات *in situ* و *in vivo* حاکی از آن است که تولید گاز بطور دقیق تخمیر ماده خوراکی را منعکس می‌کند. حجم گاز تولیدی که منعکس کننده تخمیر مواد

<sup>1</sup> White muscle disease

(27) اندازه گیری و تعیین شد.

### اندازه گیری تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی

به منظور اندازه گیری تولید گاز از روش فدوراک و هرودی (7) استفاده شد. ابتدا مواد خوراکی توسط آسیاب با قطر منافذ الک 2 میلی متری بصورت یکنواخت آسیاب شدند. مقدار 300 میلی گرم از هر ماده خوراکی آسیاب شده با دقت توزین و به داخل شیشه های سرم استریل 50 میلی لیتری منتقل گردید. برای هر تیمار در هر ساعت 3 تکرار (ویال) در نظر گرفته شد. مایع شکمبه مورد نیاز در آزمایش تولید گاز، 2 ساعت بعد از وعده خوراک صبحگاهی، از 4 رأس گوسفند فیستولدار عادت دهی شده به مدت یک ماه با جیره غذایی حاوی اشکال مختلف سلنیوم (نانو، آلی، معدنی و بدون مکمل سلنیوم) که در سطح نگهداری شامل 40 درصد مواد غذایی متراکم و 60 درصد علوفه، تغذیه شده بودند، توسط پارچه توری چهار لایه جمع آوری شده و در داخل فلاسک حاوی گاز دی اکسید کربن، سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. قبل از انتقال مایع شکمبه به داخل شیشه های سرم، با بافر تهیه شده به روش مکدوگال (16) به نسبت 1 به 2 (یک قسمت مایع شکمبه و دو قسمت بافر) مخلوط شد. شیشه های سرم قبل از انتقال مایع شکمبه و بافر، جهت جلوگیری از شوک حرارتی، به مدت نیم ساعت در دمای 39 درجه سانتیگراد گرم شده بودند. در مرحله انتقال بافر و مایع شکمبه از ارلن به شیشه های سرم، جریان مداوم گاز دی اکسید کربن به ارلن که بر روی هیتر 39 درجه سانتیگراد قرار داشت، تزریق می گردید. در هر شیشه حاوی تیمار آزمایش مقدار 20 میلی لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر افزوده شد و بعد از بی هواری نمودن داخل شیشه با تزریق گاز دی اکسید کربن، درب شیشه ها توسط درپوش لاستیکی و پرس فلزی، بطور محکم بسته شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی با منشاء مایع شکمبه تعداد 3 عدد شیشه بدون ماده غذایی و فقط دارای مایع شکمبه در نظر گرفته شدند. کل شیشه ها جهت اندازه گیری گاز تولیدی به داخل دستگاه انکوباتور شیکر با 120 دور در دقیقه و دمای 39 درجه سانتیگراد، منتقل شده و عمل قرائت و ثبت میزان گاز تولیدی ناشی از تخمیر مواد غذایی در ساعات 2، 4، 6، 8، 12، 16، 24، 36، 48، 72 و 96 ساعت بعد از عمل انکوباسیون انجام گرفت.

### برآورد پارامترهای تخمینی تغذیه ای با روش تولید گاز

به گزارش گناچیو و همکاران (9) میزان انرژی قابل متابولیسمی هر کدام از خوراکیها با استفاده از میزان تولید گاز در آزمایشگاه ترکیبات شیمیایی هر کدام می توان بدست آورد. انرژی قابل متابولیسم (ME)، انرژی ویژه شیردهی (NE<sub>L</sub>) و درصد ماده آلی قابل هضم (DOM) با استفاده از معادلات ارائه شده

توسط منکی و همکاران (17) و منکی و استنگیس (18) و میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (SCFA) توسط معادله گناچیو و همکاران (9) محاسبه شد.

$$\begin{aligned} \text{ME (MJ/kg DM)} &= 1/06 + 0/1570 \text{ GP} + 0/084 \text{ CP} + 0/220 \text{ CF} - 0/081 \text{ CA} \\ \text{NEL (MJ/kg DM)} &= -0/36 + 0/1149 \text{ GP} + 0/0054 \text{ CP} + 0/0139 \text{ CF} - 0/0054 \text{ CA} \\ \text{DOM (\% DM)} &= 9/00 + 0/9991 \text{ GP} + 0/0595 \text{ CP} + 0/0181 \text{ CA} \\ \text{SCFA (m mol/200 mgDM)} &= 0/0222 \text{ GP} - 0/00425 \end{aligned}$$

که در این روابط GP تولید گاز (میلی لیتر در 200 میلی گرم ماده خشک) در 24 ساعت؛ CP، CF و CA به ترتیب پروتئین خام، چربی خام و خاکستر (درصد ماده خشک) می باشند. همچنین ME، NE<sub>L</sub>، SCFA و DOM نیز به ترتیب نشان دهنده انرژی قابل متابولیسم (MJ/kg DM)، انرژی ویژه شیردهی (MJ/kg DM)، اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر (mMol/200mgD) و ماده آلی قابل هضم (درصد) هستند.

### بررسی فاکتورهای pH، اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی شکمبه

جهت بررسی pH، اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی شکمبه، مایع شکمبه 3 ساعت پس از خوراکدهی از طریق فیستولا جمع آوری و بلافاصله با توری 4 لایه صاف گردید. جهت تعیین pH، بلافاصله پس از گرفتن نمونه، با استفاده از pH متر سیار که در محل کالیبره شده بود، استفاده شد. پس از تعیین pH، به منظور توقف اعمال هضمی و تخمیر، به ازای هر میلی لیتر از مایع شکمبه 20 میکرولیتر اسید سولفوریک 4 درصد به آن افزوده شد و به منظور آنالیز اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی نمونه ها در دمای 20- درجه سانتی گراد تا زمان اندازه گیری نگهداری شد.

جهت اندازه گیری کل اسیدهای چرب فرار از روش مارخام (15)، از دستگاه MARKHAM STILL و در دو مرحله تقطیر و تیتراسیون استفاده شد. در مرحله تقطیر 5 میلی لیتر مایع شکمبه جمع آوری شده همراه با 10 میلی لیتر سولفات منیزیم اشباع شده در اسید سولفوریک غلیظ (MgSO<sub>4</sub>+H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) به دستگاه تقطیر تزریق و گازهای حاصل (حدود 50 میلی لیتر) جمع آوری شده و بلافاصله با افزودن معرف فتل فتالین با سود 0/05 نرمال تیتراسیون صورت گرفت (15). میلی لیتر اسیدچرب فرار در یک لیتر مایع شکمبه مساوی عدد حاصل از تیتراسیون (میلی لیتر سود مصرفی) ضربدر 10 بود.

جهت تعیین میزان نیتروژن آمونیاکی شکمبه نیز از روش برودریک و کنگ (5) استفاده شد. بدین منظور 0/05 گرم نمونه یا محلول استاندارد را با 2/5 میلی لیتر فنول و 2 میلی لیتر محلول

هیپوکلریت ترکیب و در دمای 95 درجه سانتی‌گراد برای 5 دقیقه نگهداری شده و پس از خنک شدن، با اسپکتوفتومتر، در طول موج 630 نانومتر اعداد خوانده شد.

جدول 1- اقلام خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره گوسفندان فیستوله شده

اجزای جیره آزمایشی Ingredients	درصد از ماده خشک جیره % Dry Matter
یونجه Alfalfa Hay	50
کاه گندم Wheat Straw	10
ذرت Corn Grain	15
جو Barley Grain	5
کنجاله پنبه دانه Cottonseed Meal	2
سبوس گندم Wheat Bran	17
مکمل ویتامین Vitamin Premix	0.25
مکمل معدنی Mineral Premix	0.25
نمک Salt	0.5
ترکیب شیمیایی جیره Chemical Composition	
ماده خشک (درصد) Dry Matter (%)	52
پروتئین خام (درصد از ماده خشک) Crude Protein (%DM)	16
دیواره سلولی (درصد از ماده خشک) Neutral Detergent Fiber (%DM)	36
دیواره عاری از همی سلولز (درصد از ماده خشک) Acid Detergent Fiber (%DM)	24
عصاره اتری (درصد از ماده خشک) Ether Extract (%DM)	6

### شمارش پروتوزوآ

پس از تهیه نمونه مایع شکمبه و صاف کردن آن، با محلول فرمالین (100 میلی‌لیتر فرمالدهید 40٪ و 8/5 گرم نمک مرک را با آب مقطر به حجم 1 لیتر رسانده) به نسبت 1 به 5 (1 قسمت مایع شکمبه، 5 قسمت فرمالین) فیکس و در دمای یخچال نگهداری شدند. جهت شمارش و شناسایی پروتوزوآ از روش ایوان و همکاران (12) و کتاب اوگیموتو و ایما (22) استفاده شد. برای هر نمونه 3 بار شمارش انجام گرفت و در صورتی که بین تعداد پروتوزوآهای شمارش شده اختلاف بالایی وجود داشت، شمارش تکرار می‌شد.

### آنالیز آماری

کلیه داده ها بصورت طرح مربع لاتین 4×4 آنالیز شدند.

### نتایج و بحث

#### تولید گاز

نتایج مربوط به تولید گاز در تیمارهای مختلف به همراه مشخصه های تولید گاز در جدول 2 ارائه شده است. نتایج ارائه شده در جدول نشان می دهد که تا ساعت 2 انکوباسیون میزان گاز تولیدی در تیمار

به جیره غذایی دام میتواند متابولیسم و عملکرد شکمبه، بویژه تخمیر میکروبی در آن را تحت تاثیر قرار دهد (13). وانگ و همکاران (28) افزایش غلظت اسید چرب فرار تولیدی در محیط شکمبه را شاهدی از افزایش تخمیر شکمبه‌ای دام با مصرف مکمل سلنیومی دانستند. حیدر اوغلو و همکاران (10) گزارش کردند که فراهمی سلنیوم در شکمبه می‌تواند استفاده از آن توسط میکروب‌های شکمبه را تسهیل کرده و از این طریق موجب بهبود فرآیند تخمیر در محیط شکمبه شود. همانگونه که داده های تولید گاز در ساعات مختلف انکوباسیون نشان داد، پتانسیل تولید گاز (A) نیز در تیمارهای حاوی سلنیوم از تیمار کنترل یا شاهد بیشتر بوده ( $P < 0/05$ ) ولی تفاوت معنی داری بین تیمارهای حاوی انواع مختلف سلنیوم وجود نداشت. با این حال از لحاظ عددی پتانسیل تولید گاز و نرخ تولید گاز در تیمار نانو از تیمار آلی و در تیمار آلی از تیمار معدنی بالاتر بود.

سلنیوم معدنی بیش از تیمار سلنیوم نانو و آلی بود ( $P < 0/05$ ). این امر نشان می‌دهد که نوع نانو سلنیوم برای فعال شدن در شکمبه نیاز به زمان بیشتری از نوع معدنی و آلی دارد که این امر بدلیل ساختار خاص سلنیوم و ترکیبات همراه آن برمی‌گردد (29). در طول تمام ساعات انکوباسیون میزان تولید گاز به صورت عددی در تیمار نانو از تیمار آلی بیشتر بوده و در تیمار آلی نیز از تیمار معدنی بالاتر بود. اما با این حال، این تفاوتها فقط در ساعات 4 الی 8 انکوباسیون معنی دار بود ( $P < 0/05$ ). از ساعت 36 انکوباسیون به بعد میزان تولید گاز تیمار نانو، سلنومین و معدنی به طور معنی داری بیشتر از تیمار کنترل بود، اما تفاوت معنی داری از نظر تولید گاز بین این 3 تیمار حاوی سلنیوم وجود نداشت. ارتباط نزدیک بین تخمیر شکمبه‌ای با تولید گاز از قبل گزارش شده است (9). حجم گاز تولیدی که منعکس کننده تخمیر مواد خوراکی به اسیدهای چرب فرار است، می‌تواند برآوردی از قابلیت هضم ظاهری باشد (4). افزودن سلنیوم

جدول 2- میزان تولید گاز (میلی لیتر به ازای گرم ماده خشک) و مشخصه های تولید گاز تیمارهای مختلف در ساعات مختلف انکوباسیون  
Table 2- The gas production volume (mL/g DM) and gas production parameters of experimental treatments

مورد Item <sup>1</sup>	منابع سلنیوم Source of Selenium				SEM	مقایسه بین تیمارها Comparisons					
	کنترل Control	نانو Nano-Se	آلی Organic-Se	معدنی Inorganic-Se		کنترل با نانو Control vs. Nano-Se	کنترل با آلی Control vs. Organic-Se	کنترل با معدنی Control vs. Inorganic-Se	نانو با آلی Nano-Se vs. Organic-Se	نانو با معدنی Nano-Se vs. Inorganic-Se	آلی با معدنی Organic-Se vs. Inorganic-Se
2h	53.9	37.7	32.7	51.3	3.44	<0.01	<0.01	0.61	0.34	0.02	<0.01
4h	108.0	104.9	85.9	73.0	4.16	0.62	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	0.06
6h	151.0	145.5	120.2	108.5	4.48	0.42	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.10
8h	182.9	168.9	144.0	122.4	6.69	0.18	<0.01	<0.01	0.03	<0.01	0.05
12h	188.2	195.0	177.3	155.1	8.76	0.6	0.40	0.03	0.19	0.01	0.11
16h	194.6	216.5	201.7	181.7	9.74	0.15	0.62	0.37	0.32	0.04	0.18
24h	198.3	254.3	239.6	220.4	11.14	<0.01	0.03	0.20	0.38	0.06	0.26
36h	201.3	299.0	276.4	271.6	10.47	<0.01	<0.01	<0.01	0.17	0.10	0.75
48h	202.3	323.4	299.4	288.0	11.20	<0.01	<0.01	<0.01	0.17	0.06	0.49
72h	203.6	342.6	320.0	304.8	11.74	<0.01	<0.01	<0.01	0.21	0.05	0.38
96h	205.1	352.3	329.9	320.4	11.69	<0.01	<0.01	<0.01	0.21	0.09	0.58
مشخصه های تولید گاز Gas Production Parameters											
A <sup>2</sup>	201.9	344.0	321.7	319.8	11.38	<0.01	<0.01	<0.01	0.20	0.17	0.91
C <sup>3</sup>	0.274	0.060	0.056	0.048	0.010	<0.01	<0.01	<0.01	0.96	0.40	0.42

<sup>1</sup> برای هر ساعت انکوباسیون 3 تکرار از هر نمونه در آزمون تولید گاز استفاده شد.  
<sup>2</sup> A: پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر به ازای گرم ماده خشک) C<sup>3</sup>: نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)

<sup>1</sup> Three samples were analysed in gas production for each incubation hour.  
<sup>2</sup> A: Potential of gas production (ml/g DM), <sup>3</sup> C: Gas production rate (ml/h).

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 3 ارائه شده است. تیمار نانو سلنیوم

### پارامترهای تخمینی تولید گاز

مقادیر برآورد شده برای انرژی قابل متابولیسم (ME)، مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، انرژی ویژه شیردهی (NEL، مگاژول در

بعلت تولید بالای گاز در ساعت 24 می باشد. گناچیو و همکاران (9)، 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 می باشد، می تواند جهت تخمین تولید SCFA از گاز تولیدی، بکار رود. نسبت اسیدهای چرب فرار مختلف تولید شده در شکمبه نشخوارکنندگان نقش تعیین کننده‌ای در خصوصیات تولیدی دارد.

باعث افزایش ( $P < 0/05$ ) پارامترهای مذکور گردیده است ولی تفاوت معنی داری بین تیمارهای حاوی سلنیوم مشاهده نگردید. در مورد تیمار نانو سلنیوم که منجر به افزایش برآورد پارامترهای تغذیه ای شده است می تواند به علت افزایش تولید گاز در زمان 24 ساعت بعد از انکوباسیون باشد. همبستگی مثبتی بین ME و  $NE_L$  محاسبه شده در تولید گاز با قابلیت دسترسی و قابلیت هضم ترکیبات خوراک بویژه کربوهیدرات مطرح شده است (23). برآورد بالای SCFA در تیمار نانو

جدول 3- پارامترهای تخمینی تولید گاز (درصد ماده خشک) در تیمارهای مختلف<sup>1</sup>

Table 3- The gas production parameters in experimental treatments<sup>1</sup>

پارامترهای تخمینی تولید گاز Gas production parameters	انواع سلنیوم Source of Selenium				SEM <sup>2</sup>	P-Value
	نانو سلنیوم Nano-Se	سلنیوم آلی Organic-Se	سلنیوم معدنی Inorganic-Se	کنترل Control		
انرژی قابل متابولیسم ME (MJ/kg DM) <sup>3</sup>	9.34 <sup>a</sup>	8.88 <sup>ab</sup>	8.28 <sup>ab</sup>	7.59 <sup>b</sup>	0.605	0.03
انرژی خالص شیردهی $NE_L$ (MJ/kg DM) <sup>4</sup>	5.67 <sup>a</sup>	5.33 <sup>ab</sup>	4.89 <sup>ab</sup>	4.38 <sup>b</sup>	0.443	0.03
ماده آلی قابل هضم DOM (%) <sup>5</sup>	60.89 <sup>a</sup>	57.95 <sup>ab</sup>	54.10 <sup>ab</sup>	49.70 <sup>b</sup>	3.855	0.03
اسیدهای چرب کوتاه زنجیر SCFA (mMol/200mgD) <sup>6</sup>	1.12 <sup>a</sup>	1.05 <sup>ab</sup>	0.97 <sup>ab</sup>	0.87 <sup>b</sup>	0.085	0.03

<sup>1</sup>حروف متفاوت در هر ردیف از هر بخش نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار ( $P < 0.05$ ) می باشد.

<sup>1</sup>Means with different superscript letters in rows are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup>SEM: Standard error of the mean.

<sup>3</sup>ME: Metabolizable energy (MJ/kg DM)

<sup>4</sup> $NE_L$ : Net energy for lactation (MJ/kg DM)

<sup>5</sup>DOM: Digestible organic matter (%)

<sup>6</sup>SCFA: Short chain fatty acids (mMol/200 mg DM)

سلنیوم جهت ابقای افریواسکولکس نسبت داد و این بدان معناست که سلنیوم با ارتقای توان آنتی اکسیدانی محیط شکمبه و به تبع آن گونه‌های میکروبی موجود در آن، از جمله افریواسکولکس، باعث بقای آن در محیط شکمبه شده است (19). سلنیوم دارای اثر حفاظتی بر پروتوزوآهای شکمبه‌ای است و موجب افزایش بقا و فعالیت آنها می شود. به علاوه پروتوزوآهای شکمبه نیز می توانند بالانس سلنیوم حیوان را تحت تاثیر قرار دهند (8 و 11).

احتمالا افزایش تعداد کل پروتوزوآ را میتوان به ارتقای توان آنتی-اکسیدانی محیط شکمبه با افزودن سلنیوم آلی و نانو، و به تبع آن افزایش گونه‌های میکروبی موجود در محیط شکمبه از جمله پروتوزوآ-ها نسبت داد (21).

### پارامترهای تخمیری

#### a) تعداد پروتوزوآ

اثر جیره حاوی منابع مختلف سلنیوم، بر جمعیت پروتوزوآیی موجود در شکمبه دام‌های مورد آزمایش در جدول 4 ارائه شده است. همانطور که مشاهده می شود تیمار آلی موجب افزایش معنی دار تعداد کل پروتوزوآ نسبت به تیمار معدنی و نانو شد. تیمار نانو و آلی به طور معنی داری موجب افزایش گونه های *Dasytricha* و *Ophryoscolex* نسبت به تیمار معدنی شدند. و نیز تیمار آلی به طور معنی داری گونه های *Eudiplodinium* و *Diplodinium* را نسبت به تیمارهای نانو و معدنی افزایش داد. تغییر معنی داری بین سایر گونه‌های شمارش شده، در بین تیمارها وجود نداشت.

میهایلیکوا و همکاران (19) گزارش کردند که جنس افریواسکولکس فقط در محتویات شکمبه گوسفندهای گروه تغذیه شده با مکمل سلنیوم مشاهده شد اما در تیمار فاقد مکمل این جنس وجود نداشت، که تنها دلیل آن را می توان به اثرات آنتی اکسیدانی

جدول 4- تاثیر اشکال مختلف سلنیوم بر جمعیت پروتوزوای شکمبه (n×10<sup>6</sup>/ml)<sup>1</sup>  
**Table 4- Effects of Selenium supplementation form on ruminal protozoa<sup>1</sup>**

نوع پروتوزوا Type of protozoa	انواع سلنیوم Source of Selenium			SEM <sup>2</sup>	P-Value
	نانو سلنیوم Nano-Se	سلنیوم آلی Organic-Se	سلنیوم معدنی Inorganic-Se		
داسیتریشا Dasytricha	4.40 <sup>a</sup>	3.83 <sup>a</sup>	1.65 <sup>b</sup>	0.628	0.03
انتودینیوم Entodinium	5.44	5.50	5.41	0.051	0.51
افریواسکولکس Ophryoscolex	3.46 <sup>a</sup>	3.64 <sup>a</sup>	0.98 <sup>b</sup>	0.655	0.04
دیپلودینیوم Diplodinium	2.97 <sup>b</sup>	4.62 <sup>a</sup>	2.24 <sup>b</sup>	0.403	0.01
انودیپلودینیوم Eudiplodinium	0.30 <sup>b</sup>	2.42 <sup>a</sup>	0.30 <sup>b</sup>	0.512	0.03
سایر گونه های پروتوزوا Other Protozoa	5.21	5.37	5.21	0.092	0.42
کل گونه های پروتوزوا Total sum	5.74 <sup>b</sup>	5.89 <sup>a</sup>	5.72 <sup>b</sup>	0.047	0.04

<sup>1</sup>حروف متفاوت در هر ردیف از هر بخش نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار (P<0.05) می باشد.

<sup>2</sup>SEM: Standard error of the mean.

نسبت داد (25).

#### (b) غلظت کل اسیدهای چرب فرار

نتایج مربوط به غلظت کل اسیدهای چرب فرار در جدول 5 ارائه شده است. نتایج نشان می دهد که افزودن مکمل نانوسلنیوم موجب افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار در محتویات مایع شکمبه گوسفندان مورد آزمایش شده است و این افزایش به صورت معنی داری از مکمل های سلنومتیونین و سلنیت سدیم بیشتر بود (P<0/05). سلنومتیونین نسبت به سلنیت سدیم موجب افزایش اسید-های چرب فرار شد اما این افزایش به لحاظ آماری معنی دار نبود. شی و همکاران (25) افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار را با افزودن مکمل سلنیومی به جیره گزارش کردند. زون و همکاران (29) افزایش کل اسیدهای چرب فرار تولیدی را با افزودن مکمل های نانو و آلی به جیره گزارش کردند. فاکسوا و همکاران (6) گزارش کردند که استفاده از مخمر سلنیومی باعث افزایش مقاومت و رشد جمعیت میکروبی شکمبه در بره ها و در نتیجه افزایش سطح اسیدچرب فرار تولیدی در شکمبه شد. احتمالاً می توان افزایش غلظت کل اسیدهای چرب فرار تولیدی در شکمبه دام را به بهبود نرخ تخمیر میکروبی در شکمبه دام

#### (c) تولید نیتروژن آمونیاکی در شکمبه

نتایج مربوط به تولید نیتروژن آمونیاکی در شکمبه در جدول 5 ارائه شده است. نتایج نشان داد که تاثیر معنی داری بین تیمارها از نظر نیتروژن آمونیاکی وجود نداشت، هر چند که به لحاظ عددی، میزان تولید نیتروژن آمونیاکی نانو، نسبت به آلی و معدنی کمتر بود. وانگ و همکاران (28) کاهش نیتروژن آمونیاکی را با استفاده از مخمر سلنیومی در گاوهای شیری گزارش کردند. نظیراوغلو و آکساکال (20 و 21) گزارش کردند که تکمیل سلنیوم در جیره غذایی دام هیچ تغییری را در غلظت نیتروژن آمونیاکی تولید شده و همچنین تولید متان در اثر تخمیر میکروبی در محیط شکمبه ایجاد نکرد. کاهش نیتروژن آمونیاکی می تواند به دلیل اثر مثبت سلنیوم بر رشد میکروارگانیسم ها به ویژه باکتری های سلولولیتیک که منحصراً از نیتروژن آمونیاکی استفاده می کنند باشد.

## نتیجه گیری کلی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از منابع مختلف سلنیوم در جیره احتمالا می‌تواند با بهبود عملکرد شکمبه موجب افزایش تعداد پروتوزوا و افزایش کل اسیدهای چرب فرار شود که در این زمینه اشکال نانو و آلی عملکرد بهتری نسبت به فرم معدنی داشتند. در این زمینه انجام تحقیقات بیشتری بر وری حیوان زنده در جهت تعیین تاثیر استفاده از انواع مختلف مکمل سلنیومی بر عملکرد دام، جهت حصول به نتیجه کاربردی ضروری به نظر می‌رسد.

## d) تاثیر منابع سلنیومی بر میزان pH

تاثیر معنی‌داری بین تیمارها از نظر pH وجود نداشت. شی و همکاران (25) بیان نمودند که استفاده از نانو سلنیوم موجب کاهش نسبت استات به پروپیونات و pH آن می‌گردد. زون و همکاران (29)، گزارش نمودند که میانگین مقادیر pH شکمبه و نسبت استات به پروپیونات در گوسفندان تغذیه شده با N-Se در مقایسه با حیوانات دریافت کننده سلنیوم آلی و جیره شاهد پایین‌تر بود.

جدول 5- تاثیر اشکال مختلف سلنیوم بر pH، غلظت کل اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی شکمبه<sup>1</sup>Table 5- Effects of Selenium supplementation on ruminal pH, volatile fatty acids and ammonia-N<sup>1</sup>

متغیر Variable	انواع سلنیوم Source of Selenium			SEM <sup>2</sup>	P-Value
	نانو سلنیوم Nano-Se	سلنیوم آلی Organic-Se	سلنیوم معدنی Inorganic-Se		
VFA (mmol/lit) <sup>3</sup>	109.83 <sup>a</sup>	98.00 <sup>b</sup>	89.83 <sup>b</sup>	3.047	<.01
NH4 (mg/dL) <sup>4</sup>	13.72	13.73	14.10	0.388	0.14
pH <sup>5</sup>	6.46	6.59	6.36	0.162	0.13

<sup>1</sup>حروف متفاوت در هر ردیف از هر بخش نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار (P<0.05) می‌باشد.

<sup>1</sup>Means with different superscript letters in rows are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup>SEM: Standard error of the mean.

<sup>3</sup>VFA: Volatile fatty acids

<sup>4</sup>NH4: Ruminal ammonia-nitrogen

<sup>5</sup>PH: potential of hydrogen

## منابع

- 1- AbdElGhany, H, and J. L. Tortora-Perez. 2010. The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. *Small Ruminant Research*, 89: 185-192.
- 2- AOAC. 2002. Official Methods of Analysis. 17th Edn. AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA.
- 3- Barceloux, D. G. 1999. Selenium. *Journal of Clinical Toxicology*, 37: 145-172.
- 4- Blummel, M, and E. R. Ørskov. 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.
- 5- Broderick, G. A, and J. H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of Dairy Science*, 63(1): 64-75.
- 6- Faixova, Z., S. Faix, L. Leng, P. Vaczi, Z. Makova, and R. Szaboova. 2007. Hematological, blood and rumen chemistry changes in lambs following supplementation with Se-yeast. *Acta Veterinaria Brunensis*, 76: 3-8.
- 7- Fedorak, P. M, and S. E. Hruday. 1983. A simple apparatus for measuring gas production by methanogenic cultures in serum bottles. *Environ Technol*, 4: 425-435.
- 8- Fujihara, T., T. Imamura, and E. A. Orden. 2004. Utilization of protozoal selenium in young Goats. *Journal of Animal Feed Science*, 13: 265-268.
- 9- Getachew, G., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 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.
- 10- Hidirglou, M., D. P. Heaney, and K. J. Jenkins. 1968. Metabolism of inorganic selenium in rumen bacteria. *Canadian Journal of Physiological Pharmacology*, 46: 229-232.
- 11- Hidirglou, M., and K. J. Jenkins. 1974. Influence of defaunation on the utilization of selenomethionine in the sheep. *Annales De Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 14: 157-165.
- 12- Ivan, M., L. Neill, and T. Entz. 2000. Ruminal fermentation and duodenal flow following progressive inoculation of fauna free wethers with major individual species of ciliate protozoa or total fauna. *Journal of Animal Science*, 78: 750-759.
- 13- Kim, J., P. J. Vansoest, and G. F. Combs. 1997. Studies on the effects of selenium on rumen microbial



- fermentation in vitro. *Biological Trace Element Research*, 56: 203-213.
- 14- Klasing, K. C., J. P. Goff, and J. L. Greger. 2005. Selenium: Mineral tolerance of animals. The National Academics Press, Washington, DC. pp, 321-347.
  - 15- Markham, R. 1942. A steam distillation apparatus suitable for micro-Kjeldahl analysis. *Biochemical Journal*, 36(10): 790-795.
  - 16- McDougall, E. I. 1948. The composition and output of sheep in saliva. *Biochemical Journal*, 43: 99-109.
  - 17- Menke, K. H., L. Rabb, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, and W. Schnider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feed stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *Journal of Agricultural Science*, 93: 217-222.
  - 18- Menke, K. H, and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*, 28: 7-55.
  - 19- Mihalikova, K., L. Gresakova, K. Boldizarova, S. Faix, L. Leng, and S. Kisidayova. 2005. The effects of organic selenium supplementation on the rumen ciliate population in sheep. *Folia Microbiology*, 50: 353-356.
  - 20- Naziroglu, M., M. Aksakal, M. Cay, and S. Celik. 1997a. Effects of vitamin E and selenium on some rumen parameters in lamb. *Acta Veterinaria Hungarica*, 45: 447-456.
  - 21- Naziroglu, M., M. Aksakal, M. Cay, and S. Celik. 1997b. Effects of vitamin E and selenium on rumen protozoa in lambs. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 21: 81-90.
  - 22- Ogimoto, K, and S. Imai. 1981. Atlas of Rumen Microbiology. Japan Scientific Society Press, Tokyo.
  - 23- Opatpatanakit, Y., R. C. Kellaway, I. J. Lean, G. Annison, and A. Kirby. 1994. Microbial fermentation of cereal grains in vitro. *Australian Journal of Agricultural Research*, 45: 1247-1263.
  - 24- Ramirez, B. J. E., J. L. TortoraHernandez, and M. Huerta. 2001. Main causes of mortalities in dairy goat kids from the Mexican plateau. *Small Ruminant Research*, 41: 77-80.
  - 25- Shi, L. G., W. J. Xun, W. B. Yue, C. X. Zhang, Y. S. Ren, Q. Liu, Q. Wang, and L. Shi. 2011. Effect of elemental nano-selenium on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 163: 136-142.
  - 26- Underwood, E. J., and N. F. Suttle. 1999. The mineral nutrition of livestock. CAB international, Wallingford, U.K.
  - 27- 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 animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3592.
  - 28- 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: 239-44.
  - 29- Xun, W., L. Shi, W. Yue, C. H. Zhang, Y. Ren, Q. Liu. 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.

## The Effects of Different Forms of Selenium on Gas Production Parameters, Rumen Fermentation and Rumen Protozoa Population

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

Received: 03-11-2017

Accepted: 11-04-2018

**Introduction** Generally, most feeds used in livestock nutrition are deficient in some nutrients, and require nutritional supplements. Among the supplements, micro and macro minerals are particular importance. Selenium (Se) plays an important role in the reproductive function and immune system and is known as an antioxidant and catalyst for the production of thyroid hormone. It is believed that low selenium absorption in ruminants is due to the deficiency of selenium in ration and its conversion into insoluble form. Nano-particles are smaller and more active than larger particles. The importance of Selenium for rumen microorganisms are not entirely clear. Also, selenium is an essential trace element, and its importance for animal health and productivity has been well confirmed. Selenium has known to be involved in enzyme activity and preventing oxidative damage to body tissue. Selenium plays important roles in antioxidant systems, prevents cell damage and is necessary for growth, fertility, and immune system in farm animals. Recently, nano -elemental Se has attracted wide spread attention due to its high bioavailability and low toxicity, because nanometer particulates exhibit novel characteristics, such as great specific surface area, high surface activity, a lot of surface active centers, high catalytic efficiency and strong adsorbing ability and over and above the character of low toxicity of Se0. Dietary selenium is an essential trace element for animals and humans with a variety of biological functions. It plays important roles in the regulation of thyroid hormone metabolism, cell growth and antioxidant 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 objective of this research was to investigation the effects of different sources of selenium on digestion characteristics of concentrate mixture of diets in high producing lactating dairy cows using in vitro gas production technique.

**Materials and Methods** Four male ruminally fistulated sheep, average  $43 \pm 4.8$  kg of BW, were used in a replicated  $4 \times 4$  Latin square experiment. 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 placed in metabolic cages individually and fresh water was freely available during the experimental period. This experiment was conducted in four periods of 28 days with 21 d adaptation period and 7 d for data tacking. Treatments were: 1. Basal diet 2. Basal diet + 0.3 ppm nano selenium, 3. Basal diet + 0.3 ppm seleno methionine, 4. Basal diet + 0.3 ppm selenite sodium. The rumen fluid was mixed with artificial saliva (1:2 ratio, respectively) in lab, and then nano-Se levels and seleno methionine added to it. In gas production method, 300 mg of each treatment weighted and incubated for 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48, 72, 96 hours. In order to determine the effects of different forms of selenium on rumen parameters, concentrations of VFA and NH<sub>4</sub>, value of pH and population of protozoa were examined. Samples of rumen fluid were collected through the cannula at 4 h after feeding on days 19 and 20 of each collection period for pH, NH<sub>3</sub>-N, and volatile fatty acids (VFAs) determination. Ruminal pH was immediately measured using an electric pH meter. The samples were subsequently stored frozen at  $-20$  °C until analyses.

**Results and Discussion** Potential of gas production (fraction A) of nano, organic and inorganic treatments were higher (201.9, 344.0, 321.7 and 319.8 ml in control, nano, organic and mineral treatments, respectively) compared to control treatment ( $P < 0.05$ ). The nano selenium treatment had higher VFA concentration (109.83, 98.00 and 89.83 mmol/l in nano, organic and mineral treatments, respectively) when compared with organic and inorganic treatments ( $P < 0.05$ ). Rumen NH<sub>4</sub> concentration was not affected by treatments. The organic treatment caused a significant increase in total protozoa population when compared with nano and inorganic treatments

1- MSc Student of Ruminant Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

(\*-Corresponding Author Email: ataghius@yahoo.com)

( $P < 0.05$ ).

**Conclusion** The results indicated that selenium supplementation in ruminant diet improves ruminal nutrients degradability's compared to control. Therefore, the use of nano-Se resulted to increase digestibility and fermentation of nutrients resulted improved rumen microorganisms activities. Although nano and organic selenium was better than inorganic treatment in ruminal degradability and rumen parameters, however there was not any significant differences between these two treatments.

**Key words:** Gas production, Nano, Selenium, Sheep, Rumen fermentation parameters