

مقایسه اثر سطوح مختلف نانوسلنیوم بر قابلیت هضم و فراسنجه های تخمیری میکروارگانسیم‌های شکمبه گوسفند و بز

مرتضی چاجی^{۱*} و یاسر منجری^۲

تاریخ دریافت: ۹۵/۴/۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۷/۲۶

^۱ دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

^۲ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

* مسئول مکاتبه: Email: chaji@ramin.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: ذرات کوچک‌تر نانو، فعال‌تر از ذرات بزرگ‌تر هستند. اهمیت سلنیوم برای میکروارگانسیم‌های شکمبه به طور کامل مشخص نشده است. هدف: آزمایش حاضر به منظور بررسی اثر نانوسلنیوم بر فعالیت جمعیت کامل میکروارگانسیم‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌های جدا شده از مایع شکمبه گوسفند و بز انجام گرفت. روش کار: در این آزمایش، مقادیر صفر، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوسلنیوم به یک جیره پایه استاندارد گوسفند و بز افزوده شد و قابلیت هضم و تخمیر جیره‌ها در آزمایشگاه با استفاده از مایع شکمبه گوسفند و بز اندازه‌گیری شد. نتایج: بالاترین قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) جیره آزمایشی در گوسفند و بز، مربوط به مقدار ۰/۶ میلی‌گرم نانوسلنیوم بود که بیشتر از شاهد بود ($P < 0/05$). صرف نظر از سطح نانوسلنیوم، قابلیت هضم ماده خشک و NDF توسط میکروارگانسیم‌های گوسفند بیشتر از بز بود. صرف نظر از نوع دام، قابلیت هضم ماده خشک و NDF، با افزایش مقدار نانوسلنیوم، افزایش یافت ($P < 0/05$). پتانسیل تولید گاز توسط میکروارگانسیم‌های گوسفند در جیره حاوی ۰/۶ میلی‌گرم نانوسلنیوم بیشترین مقدار بود و برای تمام سطوح بیشتر از بز بود ($P < 0/05$). قابلیت هضم ماده خشک و NDF توسط باکتری‌های شکمبه گوسفند بیشتر از بز بود، بلعکس قابلیت هضم این مواد مغذی توسط قارچ‌های جدا شده از شکمبه بز بیشتر از گوسفند بود. نتیجه‌گیری نهایی: بنابراین، استفاده از نانوسلنیوم باعث بهبود هضم و تخمیر مواد مغذی توسط کل میکروارگانسیم‌ها و باکتری‌های شکمبه گوسفند و بز شد.

واژگان کلیدی: باکتری‌های شکمبه، قابلیت هضم، قارچ‌های شکمبه، نانوسلنیوم

مقدمه

معدنی پرمصرف و کم مصرف از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. سلنیوم یکی از عناصر کم‌نیاز ضروری در تغذیه حیوان با عملکردی چندگانه می‌باشد (مروین ۱۹۸۵). سلنیوم نقش مهمی در عملکرد تولیدمثلی و سیستم ایمنی دارد و به عنوان آنتی‌اکسیدان و کاتالیزور برای تولید هورمون تیروئید شناخته شده است (میلز ۱۹۵۷ و بووم ۱۹۹۷).

تولید بهینه و تداوم سلامتی در دام و طیور، مستلزم تأمین مواد مغذی ضروری به مقدار لازم و به شکل قابل دسترس در بدن می‌باشد. بطور معمول بیشتر خوراک‌هایی که در تغذیه دام استفاده می‌شوند، از نظر برخی مواد مغذی دچار کمبود بوده و نیاز به مکمل‌های غذایی را پدید می‌آورد. در بین مکمل‌های خوراکی، مواد

مهربان، تحت تاثیر اثر سلنیوم قرار نگرفته است (علیمحمدی و همکاران ۲۰۱۳)، به‌علاوه عنوان کردند که استفاده از سلنیوم معدنی تاثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم در گاو شیری ندارد (ایوانسیس و ویس ۲۰۰۱). سلنیوم آلی با منشا مخمری در جیره پایه گاو شیری، باعث افزایش گوارش‌پذیری شده است (وانگ و همکاران ۲۰۰۹). اهمیت سلنیوم برای میکروارگانیسم‌های شکمبه به طور کامل مشخص نشده است، اما تحقیقات نشان می‌دهد که سلنیوم همانند سلول‌های موجودات آلی، سلول‌های میکروارگانیسم‌های شکمبه را نیز در برابر رادیکال‌های آزاد تشکیل شده درون سلول آنها محافظت می‌کند (مک‌فرسون ۱۹۹۴). نیاز گونه‌های مختلف میکروبی شکمبه به سلنیوم متفاوت گزارش شده است، حتی این نیاز با نوع منبع خوراکی (کنسانتره‌ای یا علوفه‌ای) و نوع مکمل سلنیومی (معدنی یا آلی) تغییر می‌کند؛ به عبارت دیگر هریک از انواع جیره‌های کنسانتره‌ای و علوفه‌ای باعث غالب شدن نوع یا انواع خاصی از میکروارگانیسم‌ها در شکمبه می‌شوند، با توجه به تفاوت در سرعت رشد و ترکیب آنها، نیاز متفاوتی نیز به سلنیوم برای میکروارگانیسم‌ها با تغییر جیره ایجاد خواهد شد (ساتل ۲۰۱۲). در مطالعه‌ای، جذب ظاهری سلنیوم با تغذیه جیره کنسانتره‌ای، بیشتر از جیره حاوی یونجه بود که علت آن، جذب بیشتر سلنیوم قبل از روده کوچک گزارش شد (کونینگ و همکاران ۱۹۹۷). به عبارت دیگر تفاوت جمعیت میکروارگانیسم‌های شکمبه در جیره کنسانتره‌ای در مقایسه با جیره حاوی یونجه باعث تفاوت در نیاز به سلنیوم شده است. مطالعات نشان داده است که نشخوارکنندگان سلنیوم را به مراتب با بازده کمتری نسبت به غیر نشخوارکنندگان در روده جذب می‌کنند (کونینگ و همکاران ۱۹۹۷)، علت آن این است که در شکمبه گوسفند بخش اعظمی از سلنیوم توسط باکتری‌ها استفاده می‌شود و زمانی که باقیمانده آن شکمبه را ترک می‌کند،

کمبود سلنیوم در خوراک حیوانات، موجب مشکلاتی از جمله بیماری‌های عضله سفید، ذات الریه و ناباروری در بره و گوساله می‌شود (سورایی ۲۰۰۶). خواصی مشابه گوگرد دارد و غالباً به‌صورت ترکیبات آلی و غیرآلی (معدنی) همراه با گوگرد یافت می‌شود (لیسون و سامرز ۲۰۰۱). اعتقاد بر این است که جذب پایین سلنیوم در نشخوارکنندگان، ناشی از کمبود سلنیوم جیره و تبدیل آن به شکل نامحلول است (پیترسون و اسپدینگ ۱۹۶۳). مهم‌ترین و شناخته شده‌ترین کاربرد سلنیوم، خاصیت آنتی-اکسیدانی آن است، زیرا موجب ساخت سلنوسیستئین می‌شود که مرکز فعال آنزیم گلووتاتیون پراکسیداز^۱ است (نوارو ال‌رکون و همکاران ۲۰۰۰). آنزیم گلووتاتیون پراکسیداز در جهت کاهش اکسیداسیون موجود در ساختارهای داخل سلولی ضروری است (سورایی ۲۰۰۲). زیرا رادیکال‌های آزاد به‌طور دائم در فعالیت‌های فیزیولوژیک تولید می‌شوند و تولید آن‌ها در شرایط استرس افزایش می‌یابد. شواهد موجود، ضرورت وجود سلنیوم در جیره را برای فعالیت طبیعی سیستم ایمنی و اندام‌های مربوطه، دستگاه تولیدمثلی و سیستم هورمونی نشان می‌دهد (راک و همکاران ۲۰۰۱). سلنیوم از اکسیداسیون اسید آراشیدونیک جلوگیری نموده و از این طریق سلول‌ها و بافت ایمنی را از صدمه رادیکال‌های آزاد حفظ می‌کند (ارتور و همکاران ۲۰۰۳).

اندازه ذرات نانو، نقش مهمی در فعالیت زیستی آن‌ها دارد. به‌طور کلی، ذرات کوچک‌تر نانو، فعال‌تر از ذرات بزرگ‌تر هستند (پنگ و همکاران ۲۰۰۷). گزارش شده است که بازده جذب نانو ذرات سلنیوم بالاتر است. علاوه بر این، در شرایط آزمایشگاهی نشان داده شده است که نانوسلنیوم به‌طور مستقیم بر رادیکال‌های آزاد اثر می‌گذارد (هانگ و همکاران ۲۰۰۳). بیان نموده‌اند که هضم‌پذیری ماده خشک، لیاف نامحلول در شوینده خنثی و لیاف نامحلول در شوینده اسیدی در جیره بره‌های نژاد

^۱Glutathione peroxidase

مدل نمایی تجزیه شدند (رابطه ۱) و فراسنجه های تولید گاز محاسبه گردید (ارسکوف و مک دونالد ۱۹۷۹).

$$P = B(1 - e^{-ct}) \quad (1)$$

که در این معادله P: میلی لیتر گاز تولید شده در واحد زمان، B: میلی لیتر تولید گاز از بخش قابل تخمیر (پتانسیل تولید گاز)، c: نرخ تولید گاز (میلی لیتر بر ساعت)، t: زمان و e: عدد نپری می باشد. عامل جداکننده (PF)، تولید توده زنده میکروبی، بازده تولید توده زنده میکروبی و ماده آلی واقعا تجزیه شده نیز اندازه گیری و محاسبه شدند (بلومل و ارسکوف ۱۹۹۳).

از روش هضم دو مرحله ای (تلی و تری ۱۹۶۳) در شش تکرار، برای اندازه گیری قابلیت هضم استفاده شد. مایع شکمبه و بزاق مصنوعی به نسبت یک به چهار با هم مخلوط و سطوح مورد نظر نانوسلنیوم به آنها اضافه شد. سپس به درون لوله های حاوی پنج دهم گرم نمونه، ریخته و از دی اکسید کربن برای حداقل سازی آلودگی اکسیژنی استفاده گردید و برای مدت ۴۸ ساعت به به حمام آب گرم با دمای ۳۹ درجه سلسیوس انتقال داده شدند. لازم به ذکر است که روزانه در دو نوبت لوله های آزمایشی تکان داده شد که این عمل نشانگر حرکت محتویات شکمبه ای درون شکمبه می باشد. پس از اتمام مدت مذکور، لوله ها را به تدریج از بن ماری خارج نموده و به آرامی درب آنها را باز کرده و پس از اسیدی کردن محیط با اسیدکلریدریک، آنزیم پپسین به آنها اضافه شد. سپس لوله ها برای مدت ۴۸ ساعت (تقلید هضم شیردانی) دیگر در گرمخانه قرار داده شدند. پس از گذشت این زمان، نمونه ها صاف شده و در آون (۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس) خشک گردید. قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی با توجه به اختلاف ماده اولیه و مواد باقیمانده در پایان آزمایش هضم محاسبه گردید. الیاف نامحلول در شوینده خنثی با روش متداول اندازه گیری شد (ون سوست و همکاران ۱۹۹۱).

جداسازی و خالص سازی باکتری ها و قارچ ها و مطالعه اثر سلنیوم بر توان هضمی آنها با تهیه کشت اختصاصی

سلنیوم کم تر برای میزبان قابل دسترس می باشد (ساتل ۲۰۱۲). تمام این شواهد نشان می دهد که سلنیوم برای میکروارگانسیم های شکمبه لازم است، اما داده ای از اثر سلنیوم یا نانو سلنیوم بر توان هضمی میکروارگانسیم های شکمبه به ویژه باکتری ها و قارچ ها وجود ندارد. بنابراین هدف از انجام آزمایش حاضر، بررسی اثر نانوسلنیوم بر فعالیت میکروارگانسیم های گوسفند و بز بود.

مواد و روش ها

نمونه های آزمایشی: در آزمایش حاضر از جیره های پایه با ترکیب ۲۹ درصد جو، ۲۵ درصد سیوس، ۲۰ درصد کاه گندم، ۲۵ درصد سیلاژ ذرت، یک درصد مکمل معدنی- ویتامینی فاقد سلنیوم استفاده شد. مقادیر صفر، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ میلی گرم در کیلوگرم (ppm) نانوسلنیوم در آزمایشگاه به جیره ها افزوده و از آنها به عنوان نمونه های آزمایشی استفاده شد.

مایع شکمبه از طریق لوله معده نیم ساعت قبل از وعده خوراک صبح از چهار راس بز نجدی و گوسفند عربی که حدود سه هفته با جیره ای مشابه و بسیار نزدیک به ترکیب فوق الذکر اما فاقد مکمل سلنیومی تغذیه می شدند گرفته شد و پس از اختلاط با استفاده از پارچه نخی، صاف شده و با قرار دادن ظرف محتوی مایع شکمبه در فلاسک آب گرم ۳۹ درجه سلسیوس به آزمایشگاه منتقل گردید. تولید گاز جیره پایه حاوی سطوح مختلف نانوسلنیوم با استفاده از روش منک و استینگس (۱۹۸۸) در شش تکرار تعیین شد. مایع شکمبه را در آزمایشگاه با بزاق مصنوعی به نسبت ۱۰ به ۲۰ میلی لیتر با هم مخلوط کرده و سطوح نانوسلنیوم به آنها اضافه شد و سپس به درون لوله های حاوی سدهم گرم نمونه ریخته شدند و از دی اکسید کربن برای حداقل سازی آلودگی اکسیژنی استفاده گردید. گاز تولیدی در زمان های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از شروع انکوباسیون در حمام بن ماری ثبت گردید. داده های گاز تولیدی با استفاده از

قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌های داده‌های معنی‌دار از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد خطا استفاده شد.

نتایج و بحث

مقایسه تاثیر نانوسلنیوم بر قابلیت هضم ماده خشک و NDF توسط میکروارگانیزم‌های شکمبه بز و گوسفند در جدول ۱ نشان داده شده است. بالاترین قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) جیره آزمایشی در گوسفند و بز مربوط به سطح ۰/۶ میلی‌گرم نانوسلنیوم بود که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشتند، اما اختلاف آنها با سطوح ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم نانوسلنیوم غیر معنی‌دار شد ($P < 0/05$). در گوسفند تفاوت بین همه سطوح نانوسلنیوم با شاهد معنی‌دار بود، اما در بز تفاوت معنی‌دار مربوط به سطوح ۰/۴ و ۰/۶ میلی‌گرم بود ($P < 0/05$).

صرف‌نظر از سطح نانوسلنیوم (جدول ۲)، قابلیت هضم ماده خشک بطور معنی‌داری در گوسفند بیشتر از بز بود ($P < 0/05$)، درحالی‌که قابلیت هضم NDF در گوسفند تنها از نظر عددی بیشتر از بز شد. با توجه به نتایج جدول ۲ صرف‌نظر از نوع دام، استفاده از مقادیر مختلف نانوسلنیوم باعث افزایش خطی قابلیت هضم ماده خشک و NDF جیره‌های آزمایشی توسط میکروارگانیزم‌های شکمبه شد ($P < 0/05$) به طوری‌که بالاترین قابلیت هضم ماده خشک و NDF مربوط به جیره حاوی بیشترین مقدار نانوسلنیوم یعنی ۰/۶ میلی‌گرم بود. قابلیت هضم مواد مغذی در تمام جیره‌های حاوی نانوسلنیوم بالاتر از جیره شاهد بود ($P < 0/05$)، جیره شاهد کمترین درصد قابلیت هضم ماده خشک و NDF را داشت ($P < 0/05$).

گزارش شده است که هضم پذیری دیواره سلولی در گوسفند تحت تاثیر تیمارهای حاوی ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم بصورت سلنیت سدیم، قرار نگرفت (علیمحمدی و علی عربی ۲۰۱۳).

باکتری‌ها و قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه به روش توصیه شده (زنگ و همکاران ۲۰۰۷؛ محمدآبادی و همکاران ۲۰۱۲) مورد بررسی قرار گرفت. برای باکتری‌ها، به طور خلاصه محیط کشت شامل محلول نمکی یک (فسفات هیدروژن دی پتاسیم) و محلول نمکی دو (فسفات هیدروژن پتاسیم، سولفات آمونیوم، سولفات منیزیم، کلرید سدیم، کلرید کلسیم) تهیه و با عصاره مخمر، پپتین تریپتیکاز، کربنات سدیم مخلوط شد. محیط کشت تهیه شده از این مواد به داخل شیشه‌های سرمی حاوی نمونه آزمایشی، منتقل گردید. در نهایت محیط‌های کشت در انکوباتور در ۳۹ درجه سلسیوس کشت داده شدند و قابلیت هضم نمونه‌های خوراکی اندازه‌گیری شدند. محیط کشت قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه نیز شامل محلول نمکی یک و دو، مایع شکمبه (سانتریفیوژ شده)، عصاره مخمر، پپتون تریپتیکاز، گلوکز، سلوبیوز، بیکربنات سدیم، سیستئین، HCl و رزازورین یک‌دهم درصد بود (اورپین ۱۹۹۷). محیط کشت تحت شرایط بی‌هوازی به داخل شیشه‌های کشت منتقل گردید و بعد برای ۲۰ دقیقه در ۱۲۰ درجه اتوکلاو شد. ایزوله‌های قارچ تهیه شده به‌عنوان اینوکولانت در شیشه‌های کشت که محتوای محیط کشت اختصاصی قارچ به همراه نمونه‌های آزمایشی (۵ تکرار برای هر کدام) و آنتی بیوتیک (ترکیب آنتی بیوتیک شامل پنی سیلین-استرپتومایسین و کلرامفنیکل بود) بودند، کشت داده شدند. شیشه‌های محیط کشت، در انکوباتور در ۳۹ درجه سلسیوس کشت داده شدند. در نهایت ناپدید شدن ماده خشک و NDF نمونه‌ها توسط قارچ‌ها اندازه‌گیری شد.

مدل آماری طرح به صورت پلات خرد شده بود: $Y_{ijk} = \mu + P_i + \delta_{ik} + T_j + (PT)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$ ، در این مدل، Y_{ijk} : متغیر وابسته، μ : میانگین کل جامعه، P_i : اثر دام (بز و گوسفند)، T_j : اثر تیمار (سطح نانوسلنیوم)، $(PT)_{ij}$: اثر متقابل تیمار در دام، δ_{ik} : خطای پلات اصلی (نوع دام)، ε_{ijk} : خطای آزمایش. نتایج حاصل از آزمایش با رویه عمومی مدل خطی برنامه آماری SAS ویرایش ۹/۲ (۲۰۰۸) مورد تجزیه و تحلیل

جدول ۱- اثر نانوسلنیوم بر قابلیت هضم مواد مغذی توسط میکروارگانیسم های شکمبه بز و گوسفند

Table 1- Effect of nano-selenium on nutrients digestibility by rumen microorganisms in goat and sheep

حیوان	نانوسلنیوم	قابلیت هضم	
		Digestibility (%)	
Animal	nano-selenium (ppm)	ماده خشک	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
		Dry matter	Neutral detergent fiber
Goat	0.0	47.49 ^e	23.92 ^d
	0.2	53.48 ^{de}	26.42 ^{cd}
	0.4	55.63 ^d	29.54 ^{bc}
	0.6	56.62 ^{bcd}	39.93 ^a
Sheep	0.0	56.32 ^{cd}	26.93 ^{cd}
	0.2	62.59 ^{ab}	30.03 ^{bc}
	0.4	62.91 ^{ab}	34.83 ^{ab}
	0.6	66.86 ^a	37.95 ^{ab}
SEM		2.034	2.82
P-value		<0.01	<0.01

SEM: خطای استاندارد میانگین ها

SEM: Standard error of means (P<0/05) معنی دار است، تفاوت در یک ستون، تفاوت میانگین ها با حروف متفاوت در یک ستون، معنی دار است (P<0.05)

Means within same column with different letters differ (P<0.05)

جدول ۲- اثر نانوسلنیوم بر فعالیت هضمی میکروارگانیسم های شکمبه بز و گوسفند- صرف نظر از سطح نانوسلنیوم یا

نوع دام

Table 2- Effect of nano-selenium (ppm) on digestion activity of rumen microorganisms in goat and sheep- Regardless of nano-selenium level or animal species

حیوان/سطح نانوسلنیوم	قابلیت هضم	
	Digestibility (%)	
Animal\nano-selenium level	ماده خشک	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
	Dry matter	Neutral detergent fiber
صرف نظر از سطح نانوسلنیوم		
Regardless of nano-selenium level		
Goat	53.31 ^b	29.95
Sheep	62.17 ^a	32.43
SEM	1.07	1.49
P-value	<0.01	0.10
صرف نظر از گونه حیوان		
Regardless of animal species		
0.0	53.34 ^b	25.42 ^b
0.2	57.25 ^a	28.22 ^b
0.4	59.27 ^a	37.38 ^a
0.6	61.74 ^a	38.94 ^a
SEM	1.42	2.11
P-value	<0.01	<0.01

SEM: خطای استاندارد میانگین ها

تفاوت میانگین ها با حروف متفاوت در یک ستون، معنی دار است (P<0/05)

SEM: Standard error of means

Means within same column with different letters differ (P<0.05)

با جیره شاهد (فاقد سلنیوم) مشاهده نکردند (ایوانسیس و ویس ۲۰۰۱). در تحقیقی با استفاده از ۰/۱۵ و ۰/۳

محققین دیگری نیز با استفاده از ۰/۳ میلی گرم در کیلوگرم سلنیوم معدنی در جیره گاوهای شیری هلشتاین تفاوتی

جذب نانو ذرات سلنیوم بالاتر از ذرات غیر نانویی است (وانگ و همکاران ۲۰۰۷).

نتایج جدول ۳، اثر سطوح مختلف نانوسلنیوم بر فعالیت تولید گاز توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه بز و گوسفند را نشان می‌دهد. در مقایسه بین دو گونه، پتانسیل تولید گاز توسط میکروارگانیسم‌های گوسفند در جیره حاوی ۰/۶ میلی‌گرم نانوسلنیوم بیشترین مقدار بود و فقط اختلاف این جیره با جیره شاهد در گوسفند معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در گوسفند پتانسیل تولید گاز برای تمام سطوح بیشتر از بز بود ($P < 0.05$). اثر سطوح مختلف نانوسلنیوم بر نرخ تولید گاز توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه بز و گوسفند معنی‌دار بود (جدول ۳). بالاترین نرخ تولید گاز به تیمار ۰/۲ میلی‌گرم نانوسلنیوم در بز و کمترین مقدار به جیره حاوی ۰/۲ میلی‌گرم نانوسلنیوم در گوسفند اختصاص داشت ($P < 0.05$). بین جیره‌های حاوی سایر مقادیر نانوسلنیوم با جیره شاهد در گوسفند و یا بز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم بصورت سلنیت سدیم، تفاوت قابل توجهی در هضم‌پذیری مواد مغذی جیره در بره‌ها مشاهده نشد (کومار و همکاران ۲۰۰۸). نشان داده شد که اضافه کردن ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم تاثیری بر قابلیت هضم NDF در گوسفند نداشت (سرا و همکاران ۱۹۹۴). استفاده از ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو سلنیوم در گاو میش باعث کاهش معنی‌داری در قابلیت هضم ماده خشک و NDF می‌شود (چاجی و همکاران ۲۰۱۵). در حالی‌که گزارش شده سلنیوم به مقدار ۰/۱۵، ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک، باعث افزایش قابلیت هضم NDF شده است (وانگ و همکاران ۲۰۰۹). تفاوت در نتایج می‌تواند بر گرفته از خصوصیات ناشناخته و یا متفاوت ترکیبات نانو نسبت به فرم معمولی، یعنی زمانی‌که به‌صورت توده و اتم ایزوله شده هستند، نظیر فعالیت سطحی، راندمان کاتالیتیکی، توانایی جذب بالا و سمیت کمتر باشد، زیرا گزارش شده است که بازده

جدول ۳- اثر نانوسلنیوم بر ضرایب تولید گاز توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه بز و گوسفند

Table 3- Effect of nano-selenium on gas production coefficients by rumen microorganisms in goat and sheep

حیوان	نانوسلنیوم	ضرایب تولید گاز	
		Gas production coefficients	
Animal	nano-selenium (ppm)	B (ml)	c (ml/h)
Goat	0.0	45.66 ^c	0.086 ^b
	0.2	44.14 ^c	0.125 ^a
	0.4	44.82 ^c	0.092 ^b
	0.6	45.02 ^c	0.102 ^b
Sheep	0.0	52.42 ^b	0.033 ^c
	0.2	56.61 ^{ab}	0.029 ^c
	0.4	56.63 ^{ab}	0.037 ^c
	0.6	58.20 ^a	0.034 ^c
SEM		2.46	0.01
P-value		<0.01	<0.01

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

تفاوت میانگین‌ها با حروف متفاوت در یک ستون، معنی‌دار است ($P < 0.05$)

SEM: Standard error of means,
Means within same column with different letters differ ($P < 0.05$)

معنی‌داری با یکدیگر داشتند ($P < 0.05$). به‌طوری‌که پتانسیل تولید گاز در گوسفند بیشتر از بز و بالعکس نرخ

صرف‌نظر از سطح نانوسلنیوم (جدول ۴)، فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه بز و گوسفند تفاوت

تولید گاز در بز بیشتر از گوسفند بود ($P < 0.05$). فعالیت تولید گاز توسط میکروارگانیسم های شکمبه صرف نظر از نوع دام، اثر سطوح مختلف نانو سلنیوم بر معنی دار نشد (جدول ۴).

جدول ۴- اثر نانوسلنیوم بر ضرایب تولید گاز توسط میکروارگانیسم های شکمبه بز و گوسفند- صرف نظر از سطح نانوسلنیوم یا نوع دام

Table 4- Effect of nano-selenium (ppm) on gas production coefficients by rumen microorganisms in goat and sheep- Regardless of nano-selenium level or animal species

Animal \ nano-selenium level	Gas production coefficients	
	B (ml)	c (ml/h)
صرف نظر از سطح نانو سلنیوم		
Regardless of nano-selenium level		
Goat	44.91 ^b	0.1 ^a
Sheep	55.96 ^a	0.03 ^b
SEM	1.23	0.003
<i>P-value</i>	<0.01	<0.01
صرف نظر از گونه حیوان		
Regardless of animal species		
0.0	48.28	0.058 ^b
0.2	51.13	0.079 ^a
0.4	50.73	0.064 ^b
0.6	51.61	0.068 ^{ab}
SEM	1.74	0.008
<i>P-value</i>	0.55	0.02

SEM: خطای استاندارد میانگین ها

تفاوت میانگین ها با حروف متفاوت در یک ستون، معنی دار است ($P < 0.05$)

SEM: Standard error of means,

Means within same column with different letters differ ($P < 0.05$)

شامل باکتری ها، پروتوزوا و قارچ ها می باشد که فرآیند تخمیر خوراک در آن صورت می گیرد (سیرومی و همکاران ۲۰۰۹). گازها و سلول های میکروبی فرآورده های اصلی حاصل از تخمیر خوراک در شکمبه هستند (الکساندر و همکاران ۲۰۰۸). گاز تولیدی تحت تاثیر هیچ عامل دیگری به جز ترکیبات شیمیایی و خصوصیات فیزیکی مواد غذایی قرار نمی گیرد. اما فعالیت میکروبی مایع شکمبه می تواند روی نرخ تخمیر اثر بگذارد (منک و استینگس ۱۹۸۸). از جمله عوامل تاثیرگذار در تولید گاز می توان به کربوهیدرات محلول و غیر محلول در آب، میزان NDF، منشا مایع میکروبی، گونه دامی دهنده مایع شکمبه، زمان جمع آوری مایع شکمبه و جیره غذایی استفاده شده اشاره کرد. بنابراین علت اختلاف نتایج

در حالی که نرخ تولید گاز به طور معنی داری تحت تاثیر حضور نانوسلنیوم در جیره قرار گرفت، بطوری که سطح ۰/۲ میلی گرم نانوسلنیوم دارای بالاترین و شاهد دارای پایین ترین نرخ تولید گاز بود ($P < 0.05$)، اما بین جیره های حاوی ۰/۴ و ۰/۶ میلی گرم با یکدیگر و با شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نشد. محققین گزارش کردند که استفاده از نانو سلنیوم در جیره و انکوباسیون آن با مایع شکمبه گاو باعث کاهش معنی دار پتانسیل تولید گاز شده است (چاجی و همکاران ۲۰۱۴) که موید نتایج آزمایش حاضر نیست. در حالی که در آزمایش دیگری نرخ تولید گاز در جیره حاوی ۰/۲ میلی گرم نانوسلنیوم بیشترین مقدار بود (چاجی و همکاران ۲۰۱۴) که با نتایج آزمایش حاضر منطبق می باشد. شکمبه یک اکوسیستم پایا و خاص

ه آورده شده است. با توجه به این نتایج، نانوسلنیوم تاثیر معنی‌داری بر ماده آلی واقعا تجزیه شده، عامل جداکننده (PF)، تولید توده زنده میکروبی و بازده تولید توده زنده میکروبی نداشته است.

آزمایش حاضر در گوسفند و بز با نتایج آزمایش محققین با گاو، می‌تواند به دلایلی که در بالا اشاره شد مرتبط باشد. نتایج مربوط به اثر نانوسلنیوم بر فراسنجه‌های تولید گاز توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه بز و گوسفند در جدول

جدول ۵- اثر نانو سلنیوم بر فراسنجه‌های تولید گاز توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه بز و گوسفند

Table 5- Effect of nano-selenium on gas production parameters by rumen microorganisms in goat and sheep

حیوان	نانوسلنیوم	فراسنجه‌های تولید گاز			
		Gas production parameters			
Animal	nano-selenium (ppm)	OMTD (mg)	PF (mg/ml)	MBP (mg)	EMBP (%)
Goat	0.0	160.0	6.72	107.6	67.1
	0.2	154.8	6.86	105.2	67.2
	0.4	151.5	6.47	100.0	65.9
	0.6	148.3	6.21	95.8	64.6
Sheep	0.0	185.1	7.11	127.8	68.9
	0.2	164.7	6.58	109.6	66.5
	0.4	183.8	6.62	122.8	66.7
	0.6	164.7	5.84	102.8	62.3
SEM		11.18	0.48	11.18	2.3
P-value		0.28	0.51	0.51	0.42

OMTD: ماده آلی واقعا تجزیه شده، PF: عامل تفکیک، MP: تولید توده زنده میکروبی، EMP: بازده تولید توده زنده میکروبی

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

OMTD: Organic matter truly degraded; PF: Partitioning factor; MP: Microbial biomass production; EMP: Efficiency of microbial biomass production.

SEM: Standard error of means

توده زنده میکروبی و بازده تولید توده زنده میکروبی، بین سطوح مختلف نانوسلنیوم تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

صرف نظر از سطح نانوسلنیوم (جدول ۶)، ماده آلی واقعا تجزیه شده توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه گوسفند بطور معنی‌داری بیشتر از بز بود ($P < 0.05$). در حالی‌که در مورد سایر فراسنجه‌ها شامل عامل جداکننده، تولید توده زنده میکروبی و بازده تولید توده زنده میکروبی، بین گوسفند و بز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. شاید علت بالاتر بودن هضم در گوسفند در این جدول و جداول دیگر، غیر از جدول ۱۰ (هضم توسط قارچ‌ها) مربوط به فعالیت هضمی و تخمیری بیشتر باکتری‌های شکمبه گوسفند باشد (جدول ۸). با توجه به نتایج جدول ۶، صرف نظر از نوع دام اثر نانوسلنیوم بر فراسنجه‌های تولید گاز میکروارگانیسم‌های شکمبه معنی‌دار نبود. از نظر فراسنجه‌های تولید گاز از جمله، عامل جداکننده، تولید

جدول ۶ - اثر نانوسلنیوم بر فراسنجه های تولید گاز توسط میکروارگانیسم های شکمبه بز و گوسفند - صرف نظر از سطح

نانوسلنیوم یا نوع دام

Table 6- Effect of nano-selenium (ppm) on gas production parameters by rumen microorganisms in goat and sheep- Regardless of nano-selenium level or animal species

Animal \ nano-selenium level	فراسنجه های تولید گاز			
	Gas production parameters			
	OMTD (mg)	PF (mg/ml)	MBP (mg)	EMBP (%)
حیوان / سطح نانوسلنیوم				
صرف نظر از سطح نانوسلنیوم				
Regardless of nano-selenium level				
Goat	153.6 ^b	6.57	102.1	66.2
Sheep	174.6 ^a	6.54	115.7	66.1
SEM	5.59	0.34	6.59	1.15
<i>P-value</i>	0.029	0.41	0.12	0.39
صرف نظر از گونه حیوان				
Regardless of animal species				
0.0	172.5	6.91	117.7	68.04
0.2	159.7	6.72	107.4	66.83
0.4	169.7	6.55	111.4	66.29
0.6	156.5	6.03	99.3	63.48
SEM	7.91	0.48	7.91	1.63
<i>P-value</i>	0.50	0.25	0.46	0.20

OMTD: ماده آلی واقعا تجزیه شده، PF: عامل تفکیک، MP: تولید توده زنده میکروبی، EMP: بازده تولید توده زنده میکروبی

SEM: خطای استاندارد میانگین ها

OMTD: Organic matter truly degraded; PF: Partitioning factor; MP: Microbial biomass production; EMP: Efficiency of microbial biomass production.

SEM: Standard error of means,

Means within same column with different letters differ ($P < 0.05$)

تغذیه ای (چراگر یا سر شاخه خوار)، مقدار نیتروژن آمونیاکی شکمبه، مقدار ترشح بزاق (در بز بیشتر از گوسفند)، سرعت عبور و ماندگاری خوراک در شکمبه، تفاوت در سطح جذب از روده و اندازه پاپیلاهای روده ای، جمعیت باکتری های تجزیه کننده پروتئین و سلولز و غیره اختلاف وجود دارد (اگر اول و همکاران ۲۰۱۴)، لذا تفاوت در تاثیر نانوسلنیوم در این دو گونه ممکن است با هر کدام از این موارد به ویژه تفاوت در جمعیت میکروبی آنها مرتبط باشد.

در جدول ۷، مقایسه اثر نانو سلنیوم بر قابلیت هضم توسط باکتری های جدا شده از شکمبه گوسفند و بز آورده شده است، قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. طبق جدول ۸، صرف نظر از سطح نانوسلنیوم قابلیت هضم ماده خشک و NDF توسط میکروارگانیسم های شکمبه گوسفند بیشتر از بز بود ($P < 0.05$). علت دقیق این که چرا تاثیر نانوسلنیوم بر فعالیت هضمی باکتری های جدا شده از شکمبه گوسفند بیشتر از بز بود مشخص نشد، اما مطالعات مختلف نشان می دهند که بین گوسفند و بز در کنار شباهت هایی که دارند از نظر بسیاری از خصوصیات نظیر مقاومت به نیترات، تانن و داشتن باکتری های تجزیه کننده تانن، نوع جمعیت باکتریایی، پروتوزایی و قارچی (کامرا ۲۰۰۵) انتخاب نوع غذا، رفتار

جدول ۷- مقایسه اثر نانوسلنیوم بر قابلیت هضم مواد مغذی توسط باکتری‌های جدا شده از شکمبه بز و گوسفند

Table 7- Comparison the effect of nano-selenium on digestion activity of isolated rumen bacteria in goat and sheep

حیوان	نانوسلنیوم	قابلیت هضم	
		Digestibility (%)	
Animal	nano-selenium (ppm)	ماده خشک	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
		Dry matter	Neutral detergent fiber
Goat	0.0	43.32	19.36
	0.2	44.27	19.15
	0.4	44.65	19.11
	0.6	48.10	19.35
Sheep	0.0	47.05	22.03
	0.2	46.15	19.23
	0.4	49.45	21.96
	0.6	49.84	19.15
SEM		3.39	2.37
P-value		0.52	0.45

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

SEM: Standard error of means

جدول ۸- اثر نانوسلنیوم بر فعالیت هضمی باکتری‌های جدا شده از شکمبه بز و گوسفند- صرف نظر از سطح نانوسلنیوم یا

نوع دام

Table 8- Effect of nano-selenium (ppm) on digestion activity of isolated rumen bacteria in goat and sheep- Regardless of nano-selenium level or animal species

حیوان/سطح نانوسلنیوم	قابلیت هضم	
	Digestibility (%)	
Animal\nano-selenium level	ماده خشک	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
	Dry matter	Neutral detergent fiber
صرف نظر از سطح نانوسلنیوم		
Regardless of nano-selenium level		
Goat	45.08 ^b	18.24 ^b
Sheep	48.12 ^a	20.59 ^a
SEM	0.59	1.18
P-value	0.002	0.001
صرف نظر از گونه حیوان		
Regardless of animal species		
0.0	45.18 ^b	18.70
0.2	45.22 ^b	19.19
0.4	47.05 ^{ab}	19.25
0.6	48.97 ^a	20.54
SEM	1.04	1.68
P-value	0.01	0.88

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

تفاوت میانگین‌ها با حروف متفاوت در یک ستون، معنی دار است ($P < 0.05$)

SEM: Standard error of means,

Means within same column with different letters differ ($P < 0.05$)

به طوری که در جیره حاوی ۰/۶ میلی‌گرم نانوسلنیوم بیشترین درصد قابلیت هضم مشاهده شد، البته فقط تغییرات قابلیت هضم ماه خشک معنی داری بود و در مورد

صرف نظر از نوع دام (جدول ۸)، قابلیت هضم ماده خشک و NDF توسط باکتری‌های جدا شده از شکمبه گوسفند و بز با افزایش مقدار نانوسلنیوم در جیره افزایش یافت،

فعالیت هضمی باکتری های شکمبه هنگام وجود نانوسلنیوم در جیره ممکن است به همین دلیل باشد. اثر سطوح مختلف نانوسلنیوم بر فعالیت هضمی قارچ های جدا شده از شکمبه گوسفند و بز معنی داری نبود (جدول ۹). به طور دقیق نمی توان بیان کرد که آیا علت عدم تاثیر نانوسلنیوم بر فعالیت هضمی قارچ های شکمبه عدم نیاز آنها به این عنصر است یا این که بالعکس مقدار نیاز آنها بیشتر از مقدار مورد استفاده در آزمایش حاضر بوده است. زیرا در آزمایشی وقتی تاثیر مواد معدنی کم نیاز را روی باکتری ها و پروتوزا مطالعه می کردند، متوجه شدند که پاسخ باکتری ها به این مکمل قابل توجه بود، اما پروتوزا به همان مقدار مکمل پاسخ قابل توجهی نمی دادند که علت آن، نیاز بسیار بیشتر آنها به عناصر کم نیاز مورد مطالعه بیان شد (ساتل ۲۰۱۲).

NDF روند افزایش قابلیت هضم تنها به صورت عددی بود. شواهد نشان می دهد که وجود سلنیوم در فعالیت میکروارگانیزم های شکمبه تاثیر دارد، در شکمبه گوسفند بخش اعظمی از سلنیوم توسط باکتری ها استفاده می شود و زمانی که آنها شکمبه را ترک می کنند، سلنیوم کم تر برای میزبان قابل دسترس می باشد (ساتل ۲۰۱۲)، این موضوع نشان می دهد که سلنیوم برای فعالیت میکروارگانیزم های شکمبه لازم است. مکانیسم این که چگونه سلنیوم برای میکروارگانیزم های شکمبه اهمیت دارد به طور کامل مشخص نشده است، اما تحقیقات نشان می دهد که سلنیوم همانند سلول های موجودات آلی، سلول های میکروارگانیزم های شکمبه را نیز در برابر رادیکال های آزاد محافظت می کند (مکفرسون ۱۹۹۴). بنابراین افزایش

جدول ۹- مقایسه اثر نانوسلنیوم بر فعالیت هضمی قارچ های جدا شده از شکمبه گوسفند و بز

Table 9- Comparison the effect of nano-selenium on digestion activity of isolated rumen fungi in goat and sheep

حیوان	نانوسلنیوم	قابلیت هضم	
		Digestibility (%)	
Animal	nano-selenium (ppm)	ماده خشک Dry matter	الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber
Goat	0.0	47.47	18.77
	0.2	46.21	19.08
	0.4	44.97	17.80
	0.6	46.86	16.38
Sheep	0.0	40.64	17.94
	0.2	41.93	20.51
	0.4	41.50	19.10
	0.6	43.99	17.55
SEM		3.28	2.25
<i>P-value</i>		0.32	0.4

SEM: خطای استاندارد میانگین ها

SEM: Standard error of means

و گوسفند مشخص نشد، اما شواهد موجود نشان می دهد که بز و گوسفند از نظر نوع جمعیت قارچی، پروتوزایی و باکتریایی چه از جنبه تعداد و یا نوع سویه ها، دارای تفاوت هایی هستند. از طرفی مقاومت میکروارگانیزم های آنها به ترکیبات موجود در خوراک و انواع افزودنی ها یا توان هضمی هر یک از باکتری ها، قارچ ها و یا پروتوزوآها

صرف نظر از مقدار نانوسلنیوم در جیره، قابلیت هضم ماده خشک و NDF توسط قارچ های جدا شده از شکمبه بز به طور معنی داری بیشتر از گوسفند بود (جدول ۱۰). همان طور که در مورد اثر نانو سلنیوم بر فعالیت هضمی باکتری های جدا شده از شکمبه گوسفند و بز بیان شد، علت دقیق تفاوت اثر سلنیوم بر هضم مواد مغذی بین بز

متفاوت می‌باشد؛ مثلاً نشخوارکنندگانی که به طور مداوم با جیره‌های غنی از تانن تغذیه می‌شوند معمولاً قادر به تحمل زیادی تانن هستند، لذا عادت دهی ممکن است

جدول ۱۰- اثر نانوسلنیوم بر فعالیت هضمی قارچ‌های جدا شده از شکمبه بز و گوسفند- صرف نظر از سطح نانوسلنیوم یا

نوع دام

Table 10- Effect of nano-selenium (ppm) on digestion activity of isolated rumen fungi in goat and sheep- Regardless of nano-selenium level or animal species

حیوان/سطح نانوسلنیوم Animal\nano-selenium level	قابلیت هضم Digestibility (%)	
	الیاف نامحلول در شوینده خنثی Dry matter	الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber
	صرف نظر از سطح نانوسلنیوم Regardless of nano-selenium level	
Goat	46.37 ^a	21.33
Sheep	42.01 ^b	19.01
SEM	0.64	2.12
<i>P-value</i>	<0.01	0.31
صرف نظر از گونه حیوان Regardless of animal species		
0.0	44.05	18.36
0.2	44.07	19.80
0.4	44.23	18.07
0.6	45.42	19.47
SEM	2.9	1.50
<i>P-value</i>	0.06	0.41

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها

تفاوت میانگین‌ها با حروف متفاوت در یک ستون، معنی‌دار است ($P < 0.05$)

SEM: Standard error of means,

Means within same column with different letters differ ($P < 0.05$)

قرار نگرفتند. در مقابل در آزمایش دیگری که اثر تانن متراکم موجود در شبدر بر چهار سویه پروتئولیتیک شکمبه شامل پری‌وتلا رومینیکولا سویه B14، بوتیریویوبیریوفیروسولونس، استریپتوکوکوس بوویس و رومینوباکتر آمیلوفیلوس بررسی شد، تاثیری بر رشد و فعالیت پروتئازی دو باکتری پری‌وتلا رومینیکولا و رومینوباکتر آمیلوفیلوس مشاهده نشد، اما در دو گونه پروتئولیتیک دیگر باعث کاهش رشد و فعالیت پروتئازی شد (جونز و همکاران ۱۹۹۴). اما در آزمایش مین و همکاران (۲۰۱۲) در حین استفاده از درخت گل ابریشم

لذا همین تفاوت‌ها است که باعث پاسخ متفاوت دو گونه مورد آزمایش به نانوسلنیوم خوراک شده است. برای نمونه محققین بیان کردند که از بین تمام گونه‌های میکروبی تانن‌ها بیشترین اثر منفی را بر باکتری‌های هاضم الیاف دارند (مکسوینی، ۲۰۰۰). این محققین در حین تغذیه جیره‌های حاوی تانن مشاهده کردند که دو جمعیت مهم از باکتری‌های هضم کننده الیاف یعنی گونه‌های مختلف جنس رومینوباکتر و فیبروباکتر به مقدار قابل توجهی کاهش یافتند اما جمعیت قارچ‌ها، پروتوزاها و باکتری‌های پروتئولیتیک شکمبه تحت تاثیر

نتیجه گیری کلی

براساس نتایج آزمایش حاضر، می توان نتیجه گرفت که استفاده از نانوسلنیوم باعث افزایش قابلیت هضم ماده خشک و NDF و تولید گاز توسط میکروارگانسیم های شکمبه گوسفند و بز شد که البته تاثیر آن بر میکروارگانسیم های شکمبه گوسفند بیشتر بود. سطوح استفاده شده از نانوسلنیوم قابلیت هضم NDF و ماده خشک توسط باکتری های جدا شده از شکمبه هر دو گونه گوسفند و بز را بهبود داد اما فعالیت هضمی در گوسفند بیشتر بود. وجود نانوسلنیوم در جیره ها تاثیری بر فعالیت هضمی قارچ های جدا شده از شکمبه گوسفند و بز نداشتند.

به عنوان منبع تانن در تلیسه ها، جمعیت پریوتلا رومینیکولا سویه S-23 (گونه پروتئولیتیک) بدون تغییر ماند، اما فیبروباکتر سوکسینوژنر و رومینوکوکوس فلروفیشن (دو گونه مهم سلولیتیک در شکمبه) افزایش یافتند؛ حال آن که در حین استفاده از شاه بلوط به عنوان منبع تانن در همین آزمایش، نتیجه بلعکس بود؛ یعنی جمعیت پریوتلا رومینیکولا افزایش، اما جمعیت فیبروباکتر سوکسینوژنر و رومینوکوکوس فلروفیشن کاهش یافتند. صرف نظر از نوع دام، قابلیت هضم ماده خشک و NDF توسط قارچ های جدا شده از شکمبه تحت تاثیر افزایش مقدار نانوسلنیوم در جیره قرار نگرفت (جدول ۱۰).

منابع مورد استفاده

- Agrawal AR, Karim SA, Kumar R, Sahoo A and John PJ, 2014. Sheep and goat production: basic differences, impact on climate and molecular tools for rumen microbiome study. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science* 3(1): 684-706.
- Alexander G, Singh B, Sahoo A and Bhat TK, 2008. *In vitro* screening of plant extracts to enhance the efficiency of utilization of energy and nitrogen in ruminant diets. *Animal Feed Science and Technology* 145 (1-4) 229-244.
- Alimohamady R and Aliarabi H, 2013. Effects of Different Levels of Selenium on Performance, Blood Parameters and Nutrient Digestibility in Mehraban Male Lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research* 5 (1): 48-55.
- Arthur JR, McKenzie RC and Beckett GJ, 2003. Selenium in the immune system. *Journal of Nutrition* 133: 1457-1459.
- Baum MK, Shor-Posner G, Lai S, Zhang G, Lai H, Fletcher MA, Sauberlich H and Page JB, 1997. High risk of HIV-related mortality is associated with selenium deficiency. *Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology* 15:370-374.
- Blummel M and Orskov ER, 1993. Comparison of *in vitro* gas production and nylon bag degradability of roughages of predicting feed intake in cattle. *Animal Feed Science and Technology* 40 (2-3): 109-119.
- Chaji M, Monjezi Y, Mohammadabadi T and Tavasoli AH, 2014. The effect of using different levels of Nano selenium on digestive activity of rumen microorganisms in Holstein cow. *Proceedings of the Conference of Nanosciences and Nanotechnology*. Pyamnoor University of Gorgan, Iran.
- Chaji M, Monjezi Y and Tavasoli AH, 2015. Effect of Nano-Selenium levels on digestibility in Khuzestan Bufallo. *The Proceedings of the first International Conference on Healthy Agriculture, Nutrition and Community (ICANC)*. Tehran, Iran.
- Huang B, Zhang J, Hou J and Chen C, 2003. *Free Radical Biology and Medicine* 35: 805-813.
- Ivancic J and Weiss WP, 2001. Effect of dietary sulphur and selenium concentrations on selenium balance of lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 84: 225-232.
- Jones GA, McAllister TA, Muir AD and Cheng KJ, 1994: Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 1374-1378.

- Kamra DN, 2005. Rumen microbial ecosystem. *Current Science* 89: 1-10.
- Koenig KM, Rode LM, Cohen RDH and Buckley WT, 1997. Effects of diet and chemical form of selenium on selenium metabolism in sheep. *Journal of Animal Science* 75:817-827.
- Kumar N, Garg AK and Mudgal V, 2008. Effect of different levels of selenium supplementation on growth rate, nutrient utilization, blood metabolic profile, and immune response in lambs. *Biological Trace Element Research* 126: S44-56.
- Leeson S and Summers JD, 2001. *Scott's Nutrition of the Chicken*. 4th edition. University of Guelph, Canada.
- Macpherson A, 1994. Selenium, vitamin E and biological oxidation. In: Cole DJ, Garnsworthy PJ (Eds.) *Recent advances in animal nutrition*. Oxford, Butterworth and Heinemann, pp. 3-30.
- McSweeney CS, Palmer B and Krause DO, 2000. Tannins in Livestock and Human Nutrition: Rumen microbial ecology and physiology in sheep and goats fed a tannin-containing diet. *Proceedings of an International Workshop, Adelaide, Australia*. pp. 140-145.
- Menke KH and Steingass H, 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development* 28: 6-55.
- Mervyn L, 1985. *The Dictionary of minerals. The complete guide to minerals and mineral therapy*. Lothian Publishing, Melbourne, Australia. pp. 173-177.
- Mills GC, 1957. Hemoglobin metabolism I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protect haemoglobin from oxidative damage. *Journal of Biological Chemistry* 229: 189-197.
- Min BR, Pinchak WE Hernandez K, Hernandez C, Hume ME, Valencia E and Fulford JD, 2012. Effects of plant tannin supplementation on animal responses and *in vivo* ruminal bacterial populations associated with bloat in heifers grazing wheat forage. *The Professional Animal Scientist* 28: 464-472.
- Mohammadabadi T, Danesh Mesgaran M, Chaji M and Tahmasebi R, 2012. Evaluation of the effect of fat content of sunflower meal on rumen fungi growth and population by direct (quantitative competitive polymerase chain reaction) and indirect (dry matter and neutral detergent fiber disappearance) methods. *African Journal of Biotechnology* 11(1): 179-183.
- Navarro-Alarcon M and Lopez-Martinez MC, 2000. Essentiality of selenium in the human body: Relationship with difference diseases. *Science of the total Environment* 249: 347-371.
- Orpin CG, 1977. The rumen flagellate *Piromonas communis*: its life-history and invasion of plant material in the rumen. *Journal of General Microbiology* 99: 107-117.
- Ørskov ER and McDonald I, 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 92: 499-503.
- Peng, D, Zhang J, Liu Q and Tayler EW, 2007. Size effect elemental selenium nanoparticles (Nano-se) at supranutritional levels on selenium accumulation and glutathione S-transferase activity. *Journal of Inorganic Biochemistry* 101(10): 1457-1463.
- Peterson PJ and Spedding DJ, 1963. The excretion by sheep of 75 selenium incorporated into red clover: the chemical nature of the excreted selenium and its uptake by three plant species. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 6: 13-23.
- Rock MJ, Kincaid RL and Carsens GE, 2001. Effect of prenatal source and level of dietary selenium on passive immunity and thermometabolism of newborn lambs. *Small Ruminant Research* 40: 129-138.
- SAS Institute Inc., 2008. *SAS User's Guide*. Version 9.2. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Sirohi SK, Pandey N, Goel N, Singh B, Mohini M, Pandey P and Chaudhry PP, 2009. Microbial activity and ruminal methanogenesis as affected by plant secondary metabolites in different plant extracts. *International Journal of Civil and Environmental Engineering* 1: 52-58.
- Serra AB, Nakamura K, Matsui T, Harumoto T and Fujihara RI, 1994. Inorganic selenium for sheep: II. Its influence on rumen bacterial yield, volatile fatty acid production and total tract digestion of timothy hay. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 7: 91-96.
- Surai PF, 2006. *Selenium in nutrition and health*, Nottingham University Press, Nottingham. pp. 363-588.
- Surai PF, 2002. Selenium in poultry nutrition. 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. *World's Poultry Science Journal* 58(3): 333-347.
- Suttle NF, 2012. *Mineral Nutrition of Livestock*, 4th Edition. Cambridge, CABI, Massachusetts.
- Tilley JMA and Terry RA, 1963. A two stage technique for *in vitro* digestion of forage crops. *British Grassland Society* 18:104-111.

- Van Soest P, Robertson JB and Lewis BA, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597.
- 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.
- Wang H, Zhang J and Yu H, 2007. Elemental selenium at nano size possesses lower toxicity without compromising the fundamental effect on selenoenzymes: Comparison with selenomethionine in mice. *Free Radical Biology and Medicine* 42: 1524-1533.
- Zhang Y, Gao W and Meng Q, 2007. Fermentation of plant cell walls by ruminal bacteria, protozoa and fungi and their interaction with fibre particle size. *Archives of Animal Nutrition* 61(2):114-125.

Compare the effect of different levels of nano-selenium on digestion and fermentation parameters of rumen microorganisms of sheep and goat

M Chaji^{1*} and Y Monjezi²

Received: 21 Jun 2016 Accepted: October 17, 2016

¹Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and food industries, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran

²Graduated Master of Science (MSc) in Animal Science, Department of Animal Science, Faculty of Animal Sciences and food industries, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Molasani, Ahvaz, Iran

*Corresponding author: Email: chaji@ramin.ac.ir

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 (Peterson and Spedding 1963; Surai 2006). Nano-particles are smaller and more active than larger particles. The importance of Selenium for rumen microorganisms are not entirely clear. The present experiment was conducted to evaluate the effect of nano-selenium on activity of whole population of microorganisms, bacteria and fungi, which isolated from the rumen liquid of sheep and goats.

Material and methods: The experimental sample in the present experiment was a basal diet including: 29% barley grain, 25% wheat bran, 20% wheat straw, 25% corn silage, 1% selenium-free mineral-vitamin supplement. In the present experiment 0, 0.2, 0.4 and 0.6 ppm nano-Se was added to the basal standard diet of sheep and goats, then digestibility and fermentation parameters of diets were measured by the rumen fluid of sheep and goats *in vitro*. The rumen fluid was taken through the stomach tube from four Najdi goat and Arabi sheep before the morning meal, mixed separately, filtered using four layers of cheesecloth, and potted in a flask content warm water. These animals were fed with a diet, approximately similar to basal ration, but without selenium, about three weeks. Gas production of the basal diet containing different levels of nano-Se was determined using the Menke and Steingass (1988) in six replications. The rumen fluid was mixed with artificial saliva (1:2 ratio, respectively) in lab, and then nano-Se levels added to it. The gas production was recorded at zero, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72 and 96 hours after the start of incubation in water bath. The gas production data were analyzed using the exponential model and the gas production parameters were calculated (Ørskov and McDonald, 1979). Two steps digestion (Tilley and Terry 1963) method in six replications was used to measure digestibility of experimental diets. The rumen fluid and buffer was prepared as mentioned for gas production experiment. Isolation and purification of bacteria and fungi, and studying the effect of nano selenium on their digestible activity conducted by preparing the specific medium cultures of ruminal anaerobic bacteria or fungi according to recommended method (Zhang et al., 2007; Mohammadabadi et al. 2012).

Results and discussion: The highest digestibility of dry matter (DM) and neutral detergent fiber (NDF) of experimental diets in sheep and goats were for the level of 0.6 ppm nano-Se that was higher than control diet ($P<0.05$). Regardless the nano-Se level, the DM and NDF digestibility by rumen microorganisms of sheep was more than goat. Regardless the type of animal, digestibility of DM and NDF increased with increasing the amount of nano-Se ($P<0.05$). It has been reported that cell wall digestibility in sheep was not affected by treatments containing 0.2 and 0.4 mg/kg selenium as sodium selenite (Alimohamady and Aliarabi, 2013). The use of 0.2, 0.4 and 0.6 mg/kg of nano-selenium in buffalo reduced the digestibility of dry matter and NDF (Chaji et al. 2015). In contrast, using 0.15,

0.20 and 0.45 mg/kg nano-Se in diet resulted to increase the digestibility of NDF (Wang et al. 2009). Differences in results can be derived from the unknown or different properties of nano compounds relative to the conventional form, such as surface activity, catalytic efficiency, high absorption ability and low toxicity; because it has been reported that selenium nanoparticle uptake efficiency is higher than non-nano sized particles (Wang et al. 2007). Potential of gas production was maximum in diets containing 0.6 ppm nano-Se by microorganisms of sheep and was more than goat for all levels ($P < 0.05$). The researchers reported that using nano selenium in the diet and incubating it with rumen fluid of cow resulted to reduce the potential of gas production (Chaji et al., 2014), which was in contrast with the results of the present experiment. While in another experiment, the rate of gas production in the diet containing 0.2 mg of nano-Se was the highest (Chaji et al., 2014), which was consistent with the results of the present experiment. The digestibility of DM and NDF by rumen bacteria of sheep was significantly higher than the goat, reversely; digestibility of these nutrients by fungi isolated from goat was more than sheep. The exact reason for higher digestible activity of isolated bacteria from rumen of sheep than goats, affected by nano-Se, was not ascertained. The various studies were shown that sheep and goat, along with similarities, has many different properties, such as resistance to nitrate, tannin, the populations of bacterial, protozoa and fungi (Kamra 2005); also, type of food, nutritional behavior (grazer or browser), rumen ammonia nitrogen, salivation (in goats more than sheep), and rumen passage rate and so on (Agrawal et al. 2014). Therefore, the differences in the effect of nano-Se in these two species may be related to each of these differences, especially the differences in their microbial population.

Conclusion: Therefore, the use of nano-Se resulted to increase digestibility and fermentation of nutrients by whole rumen microorganisms and bacteria of both species.

Keywords: Digestibility, Nano selenium, Rumen bacteria, Rumen fungi