

INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACIÓN CON SELENITO DE SODIO SOBRE VARIABLES DIGESTIVAS EN CORDEROS

INFLUENCE OF SODIUM SELENITE SUPPLEMENTARY ON DIGESTIVE VARIABLES IN LAMBS

Del Razo R., O.E.[†], Ramírez B., J.E.[‡], López A., R.^f, Revilla V., A.L.^f, González M., S.S.[‡], Cobos P.,
M.A.[‡], Huerta B., M.^{ff}, Peralta O., J.G.[†].

[†]Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Instituto de Ciencias Agropecuarias.
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

[‡]Posgrado en Ganadería. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad. Colegio de Postgraduados.

^fDivisión de Farmacia. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 1. UNAM

^{ff}Posgrado en Producción Animal. Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo.

RESUMEN

El consumo de selenio inorgánico afecta la fermentación ruminal y el uso de nutrientes, cambiando posiblemente el requerimiento en ovinos en crecimiento. Se utilizaron ocho corderos canulados en rumen y duodeno (43.2 ± 4.7 kg), en dos cuadros latinos repetidos con arreglo factorial de tratamientos y consumiendo dietas con 70 o 50% de grano, para evaluar diferentes consumos de selenio suplementario a partir de selenito de sodio (0, 0.2, 0.5 y 0.8 mg Se d⁻¹) sobre variables ruminales y digestivas. El selenio suplementario no afectó el pH ruminal, ni la concentración de bacterias, protozoos, N amoniacal y *AGV* ($P > 0.05$), pero si incrementó linealmente la concentración de selenio en líquido ruminal ($P \leq 0.01$). El selenito de sodio afectó la desaparición ruminal de FDN ($P \leq 0.05$) dependiendo de la dieta (interacción selenio*grano; $P \leq 0.05$). Además, el selenio suplementario afectó el flujo duodenal de almidón y la desaparición pos-ruminal de MO, FDN y N ($P \leq 0.05$), también en función del porcentaje de grano en la dieta (interacción selenio*grano; $P \leq 0.05$). La desaparición ruminal de selenio incrementó cuadráticamente con el selenito de sodio, observándose valores hasta de 65%; mientras, que la digestibilidad aparente en intestino fue mayor con Grano 70 que con Grano 50 ($P \leq 0.05$). El consumo de selenio inorgánico afecta la utilización de nutrientes, incluso con consumos superiores al recomendado; por tanto, su requerimiento puede ser mayor al recomendado, dependiendo del tipo de dieta.

Palabras clave: selenio, grano, requerimiento, fermentación ruminal, digestibilidad.

ABSTRACT

Intake of inorganic selenium affects the ruminal fermentation and nutrient utilization, changing probably the requirement in growing sheep. Eighth rumen- and duodenum-cannulated lambs (43.2 ± 4.7 kg), in two repeated Latin Squares and arrangement factorial of treatments, were used to evaluate different intakes of supplementary selenium from sodium selenite (0, 0.2, 0.5 y 0.8 mg Se d⁻¹) on ruminal and digestive variables. There is not effect of supplementary selenium on ruminal pH and bacterial, protozoo, ammonia-N and VFA concentration ($P > 0.05$), but the concentration of selenium in ruminal fluid increased linearly with the intake of sodium selenite ($P \leq 0.01$). Sodium selenite had effect on ruminal digestibility of NDF ($P \leq 0.05$) depending of diet (selenio*grano interaction; $P \leq 0.05$). Moreover, supplementary selenium had effect on starch duodenal flow and pos-ruminal digestibility of OM, NDF and N ($P \leq 0.05$), depending of diet too (selenio*grano interaction; $P \leq 0.05$). Disappearance ruminal of selenium had an increase quadratic ($P \leq 0.01$), reaching values of 65%; while, apparent intestinal digestibility was greater with Grain 70 than Grain 50 ($P \leq 0.05$). Intake of inorganic selenium affects the nutrient utilization, even with high intakes of selenium; therefore, the requirement of selenium may be greater than actual recommendation.

Keys words: selenium, grain, requirement, ruminal fermentation, digestibility.

INTRODUCCIÓN

El selenio en mamíferos es parte estructural de las selenoproteínas, entre las que destacan por su función conocida las glutatión peroxidasa, las yodotironina deiodinasa, las tioredoxina reductasa y la selenofosfato sintetasa, todas con actividad catalítica (Behne y Kyriakopoulos, 2001). La deficiencia de selenio en rumiantes en crecimiento generalmente provoca distrofia muscular nutricional (Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2001).

En rumiantes, el selenio se absorbe principalmente en intestino delgado (Koenig *et al.*, 1997); pero, su biodisponibilidad es afectada por las bacterias ruminales quienes lo incorporan en masa bacteriana (Serra *et al.*, 1994a) y lo reducen a compuestos de muy baja absorción (Langlands *et al.*, 1986). Se piensa que las bacterias anaerobias pueden usar el selenio inorgánico como aceptores de electrones durante su respiración (Siddique *et al.*, 2007).

La adición de selenio en medios de cultivo modificó en un estudio la producción de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) incrementándola hasta en 47% usando 2 ppm de selenometionina (Kim *et al.*, 1997). Sin embargo, con la adición de 0.2 ppm en la dieta de corderos, no se observaron cambios significativos en la producción de AGV, aunque si una correlación entre la concentración de selenio en líquido ruminal y la producción de masa bacteriana (Serra *et al.*, 1994b).

Los resultados en cuanto al efecto de selenio suplementario sobre la digestibilidad y utilización de nutrientes no son concluyentes. Serra *et al.* (1994b) no encontraron diferencias significativas con 0.2 ppm de selenio inorgánico en ovinos; pero Bravo y Bañuelos (1994) si observaron un incremento significativo en la digestibilidad total de la Fibra Detergente Neutro (FDN) de 34% con 0.1 ppm de selenio. El requerimiento diario de selenio para ovinos en crecimiento va de 0.09 a 0.36 (dietas a base de grano) o de 0.18 a 0.71 mg (dietas a base de forraje; NRC, 2007). Posiblemente, el efecto del selenio suplementario sobre la fermentación ruminal y la utilización de nutrientes pudiera observarse con concentraciones mayores de selenio en la dieta. Por tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar los cambios en variables ruminales y digestivas provocados por el consumo diario de diferentes cantidades de selenito de sodio en corderos alimentados con dos porcentajes de grano en la dieta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización. El experimento y análisis químicos se realizaron en el Colegio de Postgraduados (Área Metabólica y laboratorios de Nutrición Animal y Microbiología Ruminal). Solamente, la concentración de selenio total se determinó en UNAM (Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 1, Laboratorio de Desarrollo de Métodos Analíticos).

Animales. Se utilizaron ocho corderos machos (Suffolk X Dorset; 43.2 ± 4.7 kg), con cánulas de taigón tipo T en rumen y duodeno, y alojados en jaulas metabólicas. Se les aplicó antiparasitario (IVERMECTINA®) y un complejo vitamínico (VIGANTOL® ADE FUERTE).

Alimentación. Se utilizaron dietas con 70% (Grano 70: 95.6% MO; 1.26 Mcal ENg kg⁻¹ MS; 14.3% PC; 31.9% FDN; 0.80% Ca; 0.36% P) y 50% (Grano 50: 93.7% MO; 1.06 Mcal ENg kg⁻¹ MS; 15.6% PC; 50.6% FDN; 0.71% Ca; 0.35% P) de grano de maíz quebrado, con un contenido promedio de selenio de 220 (± 28.5) $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS. Se usó óxido de cromo como marcador para calcular el flujo de nutrientes. Se preparó una mezcla mineral para mezclar adecuadamente el selenito de sodio. La alimentación fue a las 07:00 y 19:00 h, restringiendo el consumo al 2.2% del peso vivo y ofreciendo agua a libre acceso.

Diseño experimental. En la primer etapa se utilizó la dieta Grano 70 y el diseño experimental fue un cuadro latino incompleto 3 X 4 repetido (tres periodos experimentales como hileras y ocho animales como columnas [4 por repetición]). En la segunda (Grano 50) se usó un cuadro latino 4 X 4 repetido (cuatro periodos experimentales y ocho animales). Por tanto, hubo anidamiento de periodos dentro de dieta y de animales dentro de repetición de cuadro. Cada periodo experimental consistió de 14 días (10 para adaptación a tratamientos y cuatro para recolección de muestras).

Tratamientos. Se evaluaron diferentes consumos de selenio suplementario a partir de selenito de sodio (0, 0.2, 0.5 y 0.8 mg Se d⁻¹; factor A) con dos porcentajes de grano de maíz en la dieta (70 y 50%;

factor B), resultando ocho tratamientos. Las cantidades de selenio utilizadas son inferiores a la concentración máxima tolerable para rumiantes (NRC, 2007).

Muestreo. En cada periodo se obtuvo una muestra del alimento (500 g). Durante los muestreos se recolectaron dos muestras diarias de fluido duodenal (200 ml), materia fecal (50 g) y orina (50 ml), en el siguiente horario: día 1, 08:00 y 14:00 h; día 2, 09:30 y 15:30 h; día 3, 11:00 y 17:00 h; y día 4, 12:30 y 18:30 h. Las muestras se congelaron (-20°C) hasta su análisis. En el cuarto día de muestreo se recolectó líquido ruminal (100 ml), el cual fue procesado dependiendo del análisis o determinación que se realizaría posteriormente.

Determinaciones y análisis químicos. En líquido ruminal se registró el pH inmediatamente después de su recolección y se midió la concentración de bacterias (cámara Petroff-Hausser; 100x) y protozoos (cámara Neubauer; 40x), de acuerdo a las especificaciones de los fabricantes de las cámaras. También, se determinó la concentración de AGV (Zinn, 1988), N amoniacal (AOAC, 2003) y selenio (Ghany-Hefnawy *et al.*, 2007). En alimento, quimo duodenal y heces se determinó materia seca, cenizas, N total (AOAC, 2003), almidón (Herrera-Saldaña *et al.*, 1990), FDN (Weizhong and Udén, 1998), cromo (Koenig *et al.*, 1997) y selenio (Ghany-Hefnawy *et al.*, 2007). Adicionalmente, se determinaron purinas (Zinn and Owens, 1986) y N amoniacal (AOAC, 2003) en quimo duodenal.

Variables de respuesta. En rumen fueron: pH, concentración de selenio ($\mu\text{g L}^{-1}$), concentración de bacterias (1×10^{10} cels. ml^{-1}), concentración de protozoos (1×10^5 cels. ml^{-1}), concentración de N amoniacal (mg dL^{-1}), y concentración (mMol L^{-1}) y proporción molar (%) de AGV. Mientras que las digestivas fueron: 1) flujo a duodeno y excreción fecal de Materia seca (MS), Materia Orgánica (MO), almidón, Fibra Detergente Neutro (FDN), Nitrógeno (N) y selenio; 2) digestibilidad ruminal, pos-ruminal y total de MS, MO, almidón y FDN, así como desaparición ruminal, pos-ruminal y total de N y selenio.

Análisis estadístico. Se utilizó procedimiento Mixed (SAS, 2000), transformando previamente los datos (logaritmo y raíz cuadrada) que no cumplieron con el supuesto de normalidad, pero los resultados se presentan en unidades originales. RANDOM se usó para especificar efectos aleatorios, LSMEANS para obtener las medias de mínimos cuadrados y PDIF para obtener las diferencias entre medias. El modelo fue $y_{ijklm} = \mu + Se_i + G_j + Se * G_{ij} + R_k + P_{l(j)} + A_{m(k)} + e_{ijklm}$, donde: y_{ijklm} = variable de respuesta; μ = media general; Se_i = Efecto fijo del i-ésimo consumo de selenio (Factor A; $i = 1, 2, 3, 4$); G_j = Efecto fijo del j-ésimo porcentaje de grano (Factor B; $j = 1, 2$); $Se * G_{ij}$ = Efecto fijo de la interacción consumo de selenio con porcentaje de grano; R_k = Efecto aleatorio de la k-ésima repetición de cuadro; $P_{l(j)}$ = Efecto aleatorio del l-ésimo periodo (hileras) anidado en el j-ésimo porcentaje de grano; $A_{m(k)}$ = Efecto

aleatorio del m -ésimo animal (columnas) anidado en la k -ésima repetición de cuadro; y e_{ijklm} = Error experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables ruminales.

El selenio suplementario incrementó linealmente la concentración de selenio en líquido ruminal ($y = 4.62 + 0.01x$; $R^2 = 0.37$; $P \leq 0.01$), pero no afectó las variables ruminales ($P > 0.05$). Tampoco se encontró correlación entre la concentración de selenio en líquido ruminal y la concentración de microorganismos ruminales ($P > 0.05$). Serra *et al.* (1994b) encontraron correlación entre el contenido de selenio en líquido ruminal y la producción de masa bacteriana ($R = -0.78$; $P \leq 0.05$). En el presente experimento no se cuantificó la masa bacteriana pero se realizó el conteo directo; por tanto, la diferencia quizá se deba a la metodología usada en cada caso. Naziroglu *et al.* (1997) observaron mayor concentración de protozoos ruminales al adicionar 0.3 ppm de selenio a la dieta de ovinos, mientras que Hidiroglou *et al.* (1968) observaron menor concentración de bacterias ruminales en ovinos alimentados con una dieta deficiente en selenio que en aquellos complementados con 1 mg de selenito de sodio por animal. La discrepancia puede deberse a que en el presente estudio el contenido de selenio en las dietas fue adecuado (NRC, 2007).

Se han reportado cambios en la concentración y proporción molar de AGV por efecto de selenio suplementario (Kim *et al.*, 1997; Naziroglu *et al.*, 1997). Estos resultados difieren con los del presente estudio y puede deberse a las diferencias en el tipo de dietas usadas, lo cual puede estar asociado al tipo de bacterias predominantes. Quizá las dietas con bajo contenido de selenio promuevan cambios en la concentración de productos de la fermentación; sin embargo, en este experimento las dietas usadas no fueron deficientes en selenio.

El selenio en mamíferos es parte estructural de las glutatión peroxidasa, enzimas que protegen de los radicales libres (Lei *et al.*, 2007). En bacterias ruminales los radicales libres son eliminados por superóxido dismutasa, peroxidasa y catalasa (Fulghum y Worthington, 1984) y al parecer la glutatión peroxidasa bacteriana no es dependiente de selenio (Holovská *et al.*, 2002). Las bacterias ruminales incorporan selenoaminoácidos en su proteína por sustitución del azufre (Hudman and Glenn, 1984 y 1985), pero no se sabe si alguno de estos forma parte de enzimas importantes para su metabolismo.

Variables digestivas.

Con Grano 70, el flujo de almidón hacia duodeno disminuyó linealmente conforme incrementaba el consumo de selenio ($P \leq 0.05$), mientras que la digestibilidad ruminal de FDN fue mayor con selenio suplementario ($P \leq 0.05$), independientemente de la cantidad consumida. Además, la digestibilidad pos-

ruminal del N disminuyó cuadráticamente alcanzando sus valores más bajos con 0.2 y 0.5 mg de selenio ($P \leq 0.01$; Figura 1).

Mientras, con Grano 50, la digestibilidad pos-ruminal de MO fue significativamente mayor con 0.8 mg de selenio ($P \leq 0.05$). Aunque la digestibilidad ruminal de FDN fue significativamente menor con 0.8 mg de selenio respecto a los corderos sin selenio suplementario ($P \leq 0.05$), con el mismo consumo de selenio se mejoró la digestibilidad pos-ruminal de este nutriente ($P \leq 0.05$). Además, la digestibilidad pos-ruminal del N también fue significativamente mayor con 0.8 mg de selenio respecto al grupo sin selenio suplementario ($P \leq 0.05$; Figura 1).

Serra *et al.* (1994b) no observaron cambios significativos sobre la digestibilidad de MS, MO, PC, FDN y FDA con la adición de 0.2 ppm de selenio a partir de selenito y selenato de sodio usando una dieta a base de forraje. Sin embargo, Bravo y Bañuelos (1994) incrementaron la digestibilidad total de la FDN en corderos al adicionar 0.2 ppm de selenio en la dieta. En el presente estudio, el mayor beneficio de la adición de selenito de sodio en cantidades elevadas sobre la digestibilidad de nutrientes se observó en corderos alimentados con 50% de grano (Figura 1B, 1C y 1D). En la porción intestinal también existe una población de bacterias anaerobias que degradan y utilizan nutrientes no digeridos en rumen, encontrándose en ciego y colon concentraciones y proporciones molares de AGV incluso similares a las del rumen (Stevens y Hume, 1998). La mejoría en digestibilidad post-ruminal de MO, FDN y N puede deberse a un efecto sobre la actividad de estas bacterias. En contraparte, el único beneficio de adicionar selenito a la dieta con 70% de grano se observó en la degradación ruminal de FDN, sin embargo el mismo efecto se logró con 0.2 mg de selenio que con cantidades superiores.

La desaparición ruminal de selenio incrementó cuadráticamente ($P \leq 0.01$) por efecto del selenito de sodio, observándose una desaparición entre 45 y 65% del total consumido. Mientras, que su digestibilidad pos-ruminal mostró una disminución cuadrática ($P \leq 0.01$; Figura 1E y 1F) recuperándose parcialmente con 0.8 mg. López *et al.* (1969) reportaron en corderos que entre 20 y 30% del selenio administrado oralmente se elimina por volatilización.

Algunas bacterias y hongos pueden producir dimetilselenuro, un compuesto de selenio muy volátil, por metilación de selenio inorgánico (Thompson-Eagle *et al.*, 1989). En rumen la producción de dimetilselenuro es elevada y la cantidad de selenio eliminado por esta vía puede ser superior que la eliminada por heces y orina (López *et al.*, 1969). Por tanto, en el presente estudio, es probable que el selenio desaparecido en rumen no haya sido absorbido en este sitio, sino que haya sido eliminado por volatilización a través del eructo.

Las bacterias ruminales son capaces de reducir selenio inorgánico a selenio elemental, el cual es de muy baja biodisponibilidad para absorberse en intestino delgado (Hudman y Glenn, 1984). El selenio

inorgánico se usa por bacterias anaerobias como aceptor final de electrones durante su respiración (Oremland, *et al.*, 1989; Siddique *et al.*, 2007) y para ser incorporado en selenoaminoácidos (como la selenometionina) tiene que reducirse a selenuro (Sunde, 1997), el cual también es de baja disponibilidad. En el presente estudio la desaparición post-ruminal de selenio disminuyó con 0.2 y 0.5 mg, lo cual refleja la capacidad reductora de las bacterias ruminales disminuyendo la disponibilidad del selenio para absorberse en el intestino. Es posible que al incrementar la cantidad a 0.8 mg la capacidad reductora de las bacterias se haya saturado, reflejándose en un incremento en su desaparición post-ruminal.

En el presente estudio, se observó el efecto de grano sobre la desaparición pos-ruminal del selenio ($P \leq 0.05$), el cual en promedio fue $69.3\% \pm 2.8$ y $51.8\% \pm 2.5$ con 70 y 50% de grano en la dieta. Esto concuerda con Koenig *et al.* (1997) quienes encontraron mayor digestibilidad de selenio con dietas a base de grano (63.7%) que con dietas a base de forraje (36.6%). Las recomendaciones del NRC (2007) indican menor requerimiento de selenio con dietas a base de grano y mayor con dietas a base de forraje, considerando un coeficiente de absorción del mineral de 0.60 y 0.30, respectivamente.

CONCLUSIONES

El consumo de selenio suplementario a partir de selenito de sodio, en cantidades que van de 0.2 a 0.8 mg d⁻¹, en corderos alimentados con 70 y 50% de grano de maíz en la dieta, no provoca cambios en las características fermentativas del rumen; sin embargo, si afecta la desaparición ruminal y pos-ruminal de nutrientes dependiendo de la cantidad de grano en la dieta. El mayor beneficio del consumo elevado de selenito de sodio ocurre con dietas con 50% de grano, ya que se logró una mejor digestibilidad pos-ruminal de MO, FDN y N con 0.8 mg de selenio; por tanto, el requerimiento de selenio puede ser mayor al recomendado por el NRC (2007), incluso con un aporte adecuado del mineral por parte de la dieta.

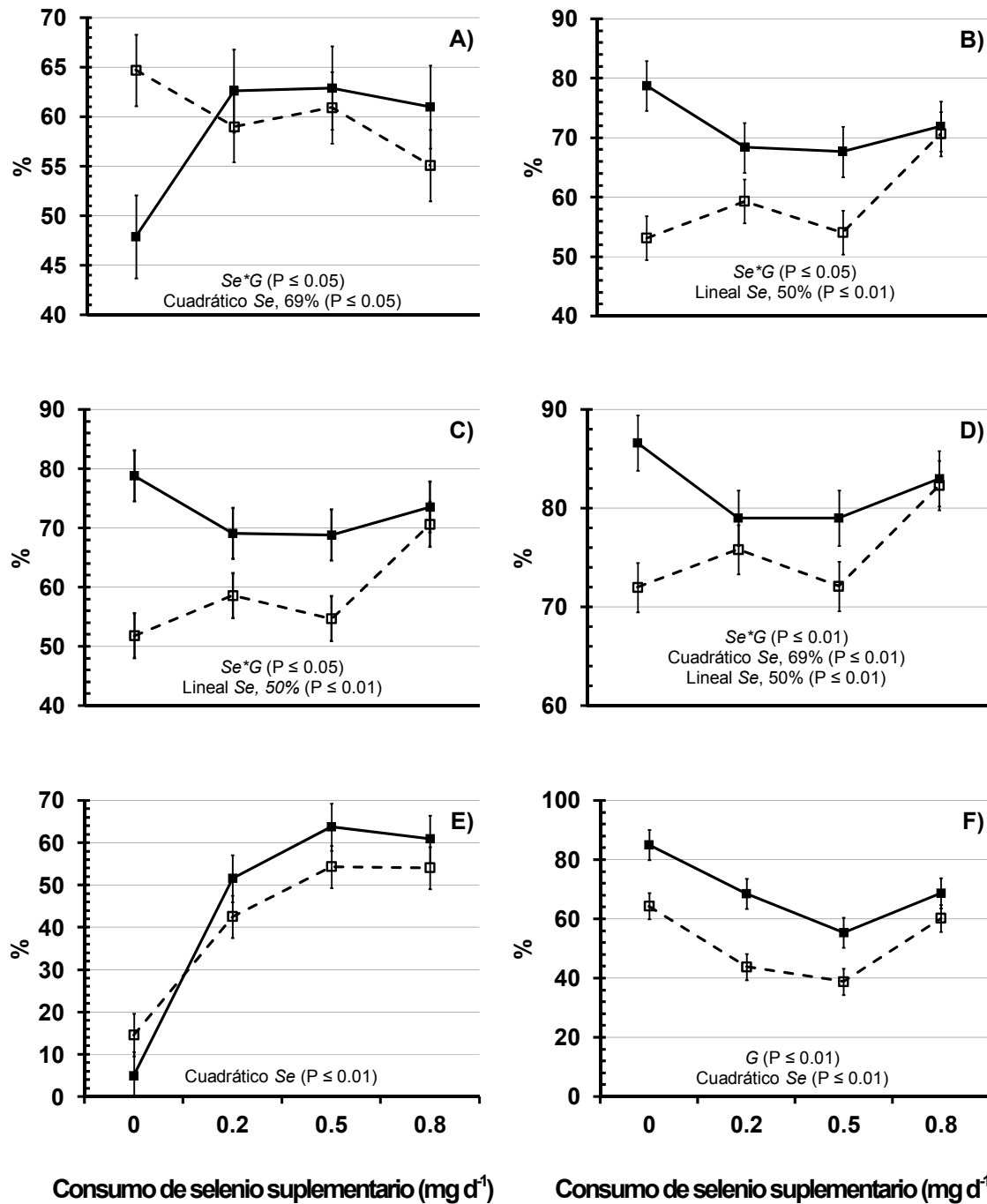


Figura 1. Desaparición de la Fibra Detergente Neutro (A, ruminal; B, pos-ruminal), Materia Orgánica (C, pos-ruminal), Nitrógeno (D, pos-ruminal) y selenio (E, ruminal; F, pos-ruminal) en corderos alimentados con 70 (—■—) y 50% (—□—) de grano de maíz en la dieta y selenito de sodio suplementario.

LITERATURA CITADA

- AOAC. 2003. Official methods of analysis, 17th edition. Association of Official Analytical Chemist. Washington, D.C.
- Behne, D. and A. Kyriakopoulos. 2001. Mammalian selenium-containing proteins. *Annu. Rev. Nutr.* 21: 453-473.
- Bravo M., E., y J. Bañuelos L. 1994. Comportamiento de ovinos suplementados con selenio. Tesis Profesional. Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. 80 p.
- Fulghum, R.S. and J.M. Worthington. 1984. Superoxide dismutase in ruminal bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 48: 675-677.
- Ghany-Hefnawy, A.E., R. López-Arellano, A. Revilla-Vázquez, E. Ramírez-Bribiesca, and J. Tórtora-Pérez. 2007. The relationship between fetal and maternal selenium concentrations in sheep and goats. *Small Rum. Res.* 73: 174-180.
- Herrera-Saldana, R. E., J. T Huber and M. H. Poore. 1990. Dry Matter, Crude Protein, and Starch Degradability of Five Cereal Grains. *J. Dairy. Sci.* 73: 2386-2393.
- Hidiroglou, M., D.P. Heaney, and K.J. Jenkins. 1968. Metabolism of inorganic selenium in rumen bacteria. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 46: 229-232.
- Holovská, K., V. Lenártová, K. Holovská, P. Pristaš, and P. Javorský. 2002. Are ruminal bacteria protected against environmental stress by plant antioxidants. *Lett. Appl. Microbiol.* 35: 301-304.
- Hudman, J.F. and A.R. Glenn. 1984. Selenite uptake and incorporation by *Selenomonas ruminantium*. *Arch. Microbiol.* 140: 252-256.
- Kim, J., P.J. Van Soest, and G.F. Combs, Jr. 1997. Studies on the effects of selenium on rumen microbial fermentation *In Vitro*. *Biol. Trace Elem. Res.* 56: 203-213.
- 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.
- Langlands, J.P., J.E. Bowles, G.E. Donald and A.J. Smith. 1986. Selenium excretion in sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 37: 201-209.
- Lei, X.G., W-H, Cheng, and J.P. McClung. 2007. Metabolic regulation and function of glutathione peroxidase-1. *Annu. Rev. Nutr.* 27: 41-61.
- Lopez, P.L., R.L. Preston and W.H. Pfander. 1969. Whole-body retention, tissue distribution and excretion of selenium-75 after oral and intravenous administration in lambs fed varying selenium intakes. *J. Nutr.* 97: 123-132.
- Naziroglu, M., Aksakal, M., Cay, S. and Celik, S. 1997. Effects of vitamin E and Selenium on some rumen parameters in lambs. *Acta Vet. Hung.* 45: 447-456.

- NRC. 2007. Nutrient Requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids and new world camelids. National Academy Press. Washington, DC. 381 p
- Oremland, R.S., J.T. Hollibaugh, A.S. Maest, T.S. Presser, L.G. Miller, and C.W. Culbertson. 1989. Selenate reduction to elemental selenium by anaerobic bacteria in sediments and culture: biogeochemical significance of a novel, sulfate-independent respiration. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 2333-2343.
- Ramírez-Bribiesca, J.E., J.L. Tórtora, L.M. Hernández, and M. Huerta. 2001. Main causes of mortalities in dairy goat kids from the Mexican Plateau. *Small Rumin. Res.* 41: 77-80.
- SAS. 2000. SAS/STAT User's guide. Version 8. SAS Institute Inc. Cary, NC. 1464 p.
- Serra, A.B., K. Nakamura, T. Matsui, T. Harumoto and T. Fujihara. 1994a. Inorganic selenium for sheep I. Selenium balance and selenium levels in the different ruminal fluid fractions. *AJAS.* 7: 83-89.
- Serra, A.B., K. Nakamura, T. Matsui, T. Harumoto and T. Fujihara. 1994b. Inorganic selenium for sheep II. Its influence on rumen bacterial yield, volatile fatty acid production and total tract digestion of timothy hay. *AJAS.* 7: 91-96.
- Siddique, T., J.M. Arocena, R.W. Thring, and Y. Zhang. 2007. Bacterial reduction of selenium in coal mine tailings pond sediment. *J. Environ. Qual.* 36: 621-627.
- Stevens, C.E. and I.D. Hume. 1998. Contributions of microbes in vertebrate gastrointestinal tract to production and conservation of nutrients. *Physiol. Rev.* 78: 393-427.
- Sunde, R.A. 1997. Selenium. En: O'Dell, B.L. and Sunde, R.A (eds.), *Handbook of nutritionally essential mineral elements.* Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp 493-556.
- Thompson-Eagle, E.T., W.T. Frankenberger, Jr., and U. Karlson. 1989. Volatilization of selenium by *Alternaria alternata*. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1406-1413.
- Weizhong, C. and Udén, P. 1998. An alternative oven method combined with different detergent strengths in the analysis of neutral detergent fiber. *Anim. Feed Technol.* 74: 281-288.
- Zinn, R. A. and Owens, F.N. 1986. A rapid procedure for purine measurements and its use for estimating net ruminal protein synthesis. *Can. J. Anim. Sci.* 66: 157-166.
- Zinn, R.A. 1988. Comparative feeding value of supplemental fat in finishing diets for feedlot steers supplemented with or without monensin. *J. Anim. Sci.* 66:213-227.