

## VOLUMINOZNA KRMIVA BIOFORTIFICIRANA SELENOM U HRANIDBI PREŽIVAČA

## SELENIUM-BIOFORTIFIED FORAGE IN RUMINANTS' NUTRITION

**Z. Antunović, Željka Klir Šalavardić, J. Novoselec**

Pregledni znanstveni članak - Review scientific paper  
Primljeno - Received: 31. siječanj – January 2025  
Revidirano - Revised: 13. veljače – February 2025  
Prihvaćeno - Accepted: 19. ožujak – March 2025  
<https://doi.org/10.33128/k.67.1.5>  
UDK 636.087.7:546.23

## SAŽETAK

Voluminozna krmiva predstavljaju temeljna krmiva u hranidbi preživača. Cilj je ovoga rada prikazati dostupna istraživanja koja su imala za svrhu povećati koncentraciju selena u voluminoznim krmivima biofortifikacijom selenom te utvrditi njihov utjecaj pri hranidbi preživača na proizvodna svojstva, metabolički odgovor i antioksidacijski status. Selen je esencijalni mikroelement za životinje, a njegov je nedostatak u tlima u svijetu široko rasprostranjen. Navedeno je razlog iznalaženja primjerenih postupaka/metoda s ciljem optimiziranja koncentracija selena u hrani ljudi i životinja. Brojni su razlozi izraženoga nedostatka selena u hranidbenome lancu tlo-biljka-životinja-čovjek. Jedan od takvih postupaka je i biofortifikacija usjeva/krmiva s ciljem proizvodnje hrane za životinje s povećanim koncentracijama selena. Temelji se na primjeni mineralnih gnojiva, čime se optimizira njihova primjena i/ili poboljšava dostupnost i mobilizacija minerala u tlu te se povećava sadržaj u krmivima/usjevima. Anorganski oblici selena (selenit i selenat) se najčešće koriste u gnojidbi tala ili folijarnim tretiranjem, kada ih usjevi transformiraju u organski oblik, s tim da je selenat dostupniji, a folijarna primjena učinkovitija i ekonomski prihvatljivija metoda. U dostupnim istraživanjima potvrđeno je da se biofortifikacija voluminoznih krmiva selenom pokazala kao vrlo uspješna metoda u optimiziranju koncentracije selena u usjevima/krmivima te postizanju odgovarajućih koncentracija selena u organizmu preživača.

Ključne riječi: biofortifikacija, selen, voluminozna krmiva, preživači

## UVOD

Voluminozna krmiva predstavljaju temeljna krmiva u hranidbi preživača. Kvalitetno iskorištenje voluminoznih krmiva u preživača temelji se na njihovoj specifičnoj anatomskoj građi probavnoga sustava i fiziološkim svojstvima. Za ljetnih mjeseci temelj hranidbe preživača su zelena voluminozne krmiva (najčešće paša i zelena biljna masa), dok

su to završetkom pašne sezone suha i konzervirana voluminozna krmiva (sijeno, silaža, sjenaža) te krmiva slabije hranidbene vrijednosti (slama, lisnik, kukuruzovina), ali i različita korjenasto-gomoljasta krmiva (krmna repa, šećerna repa, stočna mrkva, bundeve, krumpir i dr.; Antunović, 2015.; Domaćinović, 2006.). U svijetu je više od jednoga bilijuna ljudi izloženo određenom stupnju nedostatka selena u hrani (Banelos i sur., 2023.), a značajna

Prof. dr. sc. Zvonko Antunović, e-mail: [Zvonko.Antunovic@fazos.hr](mailto:Zvonko.Antunovic@fazos.hr), [orcid.org/0000-0002-4922-705X](https://orcid.org/0000-0002-4922-705X); doc. dr. sc. Željka Klir Šalavardić, e-mail: [zeljka.klir@fazos.hr](mailto:zeljka.klir@fazos.hr), [orcid.org/0000-0003-4078-6864](https://orcid.org/0000-0003-4078-6864); Prof. dr. sc. Josip Novoselec, e-mail: [josip.novoselec@fazos.hr](mailto:josip.novoselec@fazos.hr), [orcid.org/0000-0001-9763-3522](https://orcid.org/0000-0001-9763-3522), Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska. Ovaj je rad financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom HRZZ-IP-2022-10-3803 (Biofortifikacija krmiva selenom u proizvodnji malih preživača - SeRumBiofort).

su područja s deficitom selena u tlu, pa tako i u hranidbi životinja. Prije svega je to zbog nedostatka selena u tlima ili njegova dominantnoga oblika u tlu nepristupačnoga biljci, zatim i zbog visoke vlažnosti i neodgovarajuće pH vrijednosti tla, čime se onemogućuje njegovo usvajanje u biljkama, te zbog različitih klimatskih utjecaja, što sve uzrokuje nedostatak selena u hranidbenome lancu. Navedeno je razlog iznalaženja primjerenih postupaka/metoda s ciljem optimiziranja koncentracija selena u hrani ljudi i životinja. Brojni su razlozi izraženoga nedostatka selena u hranidbenome lancu tlo-biljka-životinja-čovjek. Tako se selen nadoknađuje primjenom različitih dodataka hrani (anorganski: selenit i selenat; organski: selenometionin i selenocistein, najčešće s dodatkom seleniziranoga kvasca, te nanoselena), primjenom sporo otpuštajućih bolusa sa selenom injekcijski ili drenčiranjem, ali i uvođenjem krmiva biofortificiranih selenom u obroke (Antunović i sur., 2020. i 2024.). Osnovna agronomska strategija vezana uz optimiziranje koncentracija selena u hranidbenome lancu ima za cilj poboljšati transfer selena i drugih nutrijenata iz tla u biljku, ali i proizvesti hranu/krmivo obogaćeno selenom koje će pomoći u povećanju koncentracija selena u hrani ljudi i životinja širom svijeta, osobito u područjima u kojima je izražen deficit selena u tlu (Banuelos i sur., 2023.).

Sve je veće zanimanje za provedbu postupka biofortifikacije usjeva/krmiva zbog proizvodnje hrane za životinje i ljude s ciljanim povećanim razinama nekoga od željenih nutrijenata. Osobito je taj trend naglašen s ciljem povećanja razina nekoga od esencijalnih nutrijenata za životinje i ljude. Najčešće su to određeni makro- i mikroelementi te neki elementi u tragovima, ali također i poželjne masne kiseline, polifenoli te drugi esencijalni nutrijenti koji su u nedostatku u hranidbenome lancu. Takav je slučaj i s mikroelementom selenom. Razvijena su dva komplementarna postupka/metode za povećanje koncentracija bioraspoloživih minerala u usjevima, i to agronomski i genetski pristup (Novoselec i sur., 2018.). Agronomski pristup temelji se na primjeni mineralnih gnojiva, čime se optimizira njihova primjena i/ili poboljšava dostupnost i mobilizacija minerala u tlu (biofortifikacija). Genetski se pristup temelji na stvaranju novih sorti/hibrida usjeva s poboljšanim sposobnostima usvajanja i nakupljanja minerala u jestivim dijelovima biljaka, koji sadrže povećane koncentracije takozvanih „promotorskih

sastojaka” kao što su askorbat, beta-karoten i polipeptidi bogati cisteinom, koji stimuliraju apsorpciju esencijalnih mineralnih elemenata u crijevima. Isto tako, oni sadrže i smanjene koncentracije „antitrijenata“, primjerice oksalata, polifenola ili fitata, koji ometaju apsorpciju minerala (White i Broadley, 2009.). Konzumacijom proizvoda/krmiva obogaćenih selenom može se povećati unos selena, čime se unaprjeđuje zdravlje ljudi i životinja te osiguravaju odgovarajuće koncentracije selena u njihovoj opskrbi hranom (Danso i sur., 2023.).

Cilj je ovoga rada prikazati dostupna istraživanja koja su imala za svrhu povećati koncentraciju selena u voluminoznim krmivima biofortifikacijom selenom te utvrditi njihov utjecaj pri hranidbi preživača na proizvodna svojstva, metabolički odgovor i antioksidacijski status.

#### *Značenje selena za životinje, osobito preživače*

Selen je esencijalni mikronutrijent za životinje i ljude, ali se njegova esencijalnost za biljke još analizira (Sarwar i sur., 2020.). Ima raznoliku ulogu u organizmu životinja. Kofaktor je u brojnim metaloenzimima u tijelu i ima značajnu ulogu kao antioksidant uključen u enzim glutation peroksidazu, koja predstavlja važan medijator u oksidativnome statusu životinje. Osim toga, sudjeluje u izgradnji enzima tioredoksinreduktaze i jodotironin dejodinaze. Jodotironin dejodinaza katalizira dejodonizaciju tiroksina ( $T_4$ ) u trijodotironin ( $T_3$ ), čime ima važnu ulogu u regulaciji hormona štitnjače te u kontroli pravilnoga razvoja, rasta i metabolizma stanica (Rosen i Liu, 2009.). Značajna je uloga selena i u regulaciji imunološkoga odgovora, jer stimulira imunološki sustav na pojačano stvaranje antitijela (IgG i IgM) te uzrokuje pojačano stvaranje T stanica i makrofaga (Ruseva i sur., 2013.). Selen inducira proces sinteze selenoproteina, koji su uključeni u antioksidacijski obrambeni mehanizam organizma (Kieliszek i Błażej, 2016.). Preporuka je da se selen u hrani životinja dodaje od 0,1 do 0,3 mg/kg suhe tvari (ST) za mliječne krave, za junad 0,5 mg/kg ST, a maksimalne dopuštene koncentracije su 5 mg/kg ST (NRC, 2016.). Prema preporuci Europske komisije (EC, 2020.), ako je dodatak selena u obliku natrijeva selenita, u hrani za preživače onda su to količine od 0,5 mg/kg ST. Osobito je izražen nedostatak selena u preživača, čiji su obroci temeljeni na voluminoznim krmivima koja su rasla na tlima siromašnima selenom. Whelan i sur. (1994.ab)

ističu da se pri dužem držanju životinja na pašnjacima siromašnima selenom ( $< 0,05$  mg/kg/ST) često javljaju bolesti. Pri dugotrajnome nedostatku selena u životinja dolazi do brojnih poremećaja i bolesti (Pecoraro i sur., 2022.). Najčešće se nedostatak selena očituje različitim simptomima (smanjenjem apetita i plodnosti, depresijama rasta i razvoja, narušavanjem imuniteta i oštećenjem mišića; Hossain i sur., 2021.; Turner i Finch, 1991.; Combs i Combs, 1986.) kada su te koncentracije tijekom dužega razdoblja ispod  $0,1$  mg/kg ST hrane. Osim toga, dolazi i do pojave nutritivne mišićne distrofije (NMD), oksidativnoga stresa, degeneracije tkiva, zaostajanja posteljice i imunosupresije, osobito do smanjenja funkcije fagocita, što dovodi do veće sklonosti bakterijskim i virusnim infekcijama, uz kompromitiranje aktivnosti neutrofila i proizvodnju antitijela, proliferaciju T i B-stanica, kao i citodestrukciju od strane T-limfocita (Lee i sur., 2020.; Khoso i sur. 2017.). Osobito u mladih preživača, mladunčadi (telad, janjad, jarad), ali i kod embrija, pri izraženome nedostatku selena dolazi do povećanoga mortaliteta zbog pojave NMD bolesti, poznate i kao bolest bijelih mišića (*WMD – White Muscle Disease*; Helmer i sur., 2021.; Sobiech i Żarczyńska, 2020.; Sobiech i Kuleta, 2002.). Najčešći simptomima ove degenerativne bolesti su ukočenost, iscrpljenost, drhtanje ekstremiteta i upala mišića (Koller i Exon, 1986.).

Za razliku od nepreživača, u preživača je lošija apsorpcija selena zbog buražne mikrobne populacije, koja uneseni selen može pretvoriti u nedostupan oblik selena (Spears, 2003.), i samo se oko  $1/3$  dodanoga selena apsorbira. Kao izvori selena koriste se anorganski oblici (selenat i selenit). Selenat je u prednosti u odnosu na selenit za gnojidbu tala, jer je visoko topiv i dostupan u tlu, dok je selenit manje mobilan i lakše se apsorbira na površini oksida, rezultirajući manjom dostupnošću selena za biljke (Schiavon i sur., 2020.).

Kao organski izvori selena u hrani koriste se selenometionin i selenocistein, koji su najčešće sadržani u seleniziranome kvascu. Erdoğan i sur. (2017.) ističu da je organski oblik selena tri puta niže toksičnosti u odnosu na anorganske oblike. U stočnoj hrani se selen nalazi najvećim dijelom u obliku L-selenometionina, koji je njegov prirodni oblik u biljkama i životinjama (Rovers, 2014.). Istraživanja u stočarstvu ukazuju da selen može umanjiti i negativne/toksične učinke teških metala kod životinja izloženih njihovu povećanome utjecaju (Danso i sur. 2023.).

Razlika između nedostatka selena, njegova optimalnoga sadržaja i količina opasnih za zdravlje životinja je mala. Stoga se tome treba posvetiti dodatna pozornost. Toksični učinak selena je multimodalan, uglavnom zbog konkurencije sa sumporom u raznim biološki aktivnim spojevima. Bolest selenoza uzrokovana je pretjeranom konzumacijom ovoga elementa, a izaziva anemiju, atrofiju miokarda, ukočenost udova i sljepoću (Karwacka i sur., 2014.). Kieliszek i Błazejak (2016.) ističu da se najveće količine selena unesenoga hranom apsorbiraju u gastrointestinalnome sustavu, osobito u crijevima (85 – 95 %), kada brzo ulaze u krvotok, u kojem se vežu s eritrocitima, albuminima i globulinima seruma i tako transportiraju u tkiva. Biljne vrste iz roda *Astragalus* bogate su selenom, a se osobito koncentracije više od  $5$   $\mu\text{g/g}$  selena smatraju opasnim za zdravlje pašnih životinja. Zbog toga se pri napasivanju životinja na pašnjacima zasnovanim na tlima bogatim selenom, a koji su bogati i biljnim vrstama iz roda *Astragalus*, pozornost mora usmjeriti na koncentracije selena u njima, jer može doći do različitih bolesti zbog možebitno prekomjernih koncentracija selena unesenih u organizme životinja (Khanal i Knight, 2010.). Visoke koncentracije selena u serumu i jetri životinja iznad  $2$   $\mu\text{g/g}$  posljedica su teške toksičnosti, kada, između ostaloga, dolazi i do pojave različitih abnormalnosti hematoloških pokazatelja. Aladrović i sur. (2021.) ističu da su toksične koncentracije selena u hrani za ovce  $10$  mg/kg ST-a, a u goveda  $8$  mg/kg ST-a. Razlikuje se akutno, subakutno i kronično trovanje domaćih životinja selenom, koje je najčešće posljedica ingestije usjevima koji nakupljaju selen iz tla, ali su razlozi često povezani i s pogreškama u hranidbi zbog prekomjernoga dodavanja različitih dodataka selena u obroke te konzumacijom hrane/usjeva i vode kontaminirane selenom (Aladrović i sur., 2021.).

#### *Biofortifikacija — čimbenici uspješnosti provedbe*

Biofortifikacija je metoda/postupak koja se najčešće obavlja gnojidbom usjeva i pašnjaka gnojivima koji sadrže selen, čime se povećava njihov sadržaj u jestivim dijelovima biljaka. U tu svrhu se koriste anorganski oblici selena koje biljke apsorbiraju i transformiraju u organske oblike selena (Lyons i sur. 2007.). Terry i sur. (2000.) iznose da je zbog manje mogućnosti konzumacije prekomjernih količina biofortificiranih krmiva selenom organski oblik selena sigurniji za ljude i životinje. Smatra se da je to pouzdana, prirodna i u znatnoj mjeri sigurna

metoda opskrbe životinja/ljudi selenom. Folijarna aplikacija selena je popularniji postupak zbog jednostavnosti i boljih rezultata, jer kemijska svojstva tla i mikrobiološki procesi u tlu imaju ograničavajući utjecaj (Danso i sur., 2023.). Ciljana primjena topivih anorganskih gnojiva, najčešće gnojivom tala ili folijarnom primjenom (10-20 g/ha selena), provodi se pri uzgoju biljaka na tlima siromašnim selenom ili onima s nedostupnim selenom. Gupta i Gupta (2000.) iznose da su to tla sa sadržajem selena ispod 0,6 mg/kg ili ona tla na kojima prevladavaju uvjeti koji biljkama onemogućuju usvajanje selena. Najčešće se zbog homogenosti raspodjele, ali i zbog olakšane primjene, rabe različita komercijalna gnojiva, primjerice urea ili kalcijev nitrat, koja onda predstavljaju „nosačku” komponentu u koju se dodaje selen (Ramkissoo i sur., 2019.). Važno je znati, kako ističu Broadley i sur. (2010.), da biljke usvajaju samo oko 12 % koncentracija gnojiva selena unesenih u tlo, jer je većina selena fiksirana u tlu te nije bioraspoloživa. Iz toga razloga za kvalitetnu opskrbu biljaka selenom potrebno je ponavljanje gnojidbe tala navedenim gnojivima za svaku razvojnu fazu biljaka. Postoje brojni čimbenici koji utječu na uspješnost provedbe biofortifikacije usjeva/krmiva selenom. Schiavon i sur. (2020.) navode da je to prije svega sadržaj i oblik selena zastupljen u tlu i biljci/usjevu, zatim količina i primijenjena metoda gnojidbe selenom, kao i vrsta/sorta usjeva, ali i agrotehničke mjere primijenjene na tlu, okoliš i vremenski uvjeti te faza rasta usjeva i korištenje drugih mikronutrijenata.

### Istraživanja biofortifikacije voluminoznih krmiva selenom

Agronomska biofortifikacija primjenom gnojiva sa selenom na tlima na kojima su zasnovani pašnjaci ili se uzgajaju različita krmiva povećala je koncentracije selena u njima (Gupta i sur., 1982.; Ylärinta, 1985.; Gupta i Gupta, 2002.; Whelan, 1989.). Folijarna aplikacija (preko lišća) topivim anorganskim oblicima selena koristi se ako je njegov sadržaj u tlu nepovoljan (zastupljenost netopivih oblika selena) ili ako se oni ograničeno raspodjeljuju u jestivim tkivima usjeva (Antunović i sur., 2021.).

U preglednoj studiji o metodama koje se koriste s ciljem obogaćivanja hrane za životinje selenom, Płaczek i sur. (2019.) zaključili su da je analizom dostupne literature vidljivo da primjena 5 do 10 g/ha/Se u uzgoju žitarica, livada i pašnjaka može povećati njegov sadržaj u biljkama do razine potrebe za ovim elementom kod životinja.

Biofortifikacija, odnosno gnojidba pašnjaka, započela je još osamdesetih godina prošloga stoljeća u Australiji (Gissel-Nielsen, 1998.) s glavnim ciljem povećanja koncentracije selena u paši zbog prevencije bolesti pašnih životinja.

Istraživanja temeljena na gnojidbi gnojivima selena (natrijev selenat ili selenit) ozimoga i jarog ječma te ljulja (*Lolium multiflorum*) proveo je u Danskoj Gissel-Nielsen (1986.). Gnojidbeni tretmani tala bili su s 10 i 20 g Se/ha u obliku selenata te sa 120 g Se/ha u obliku selenita, uz folijarno tretiranje

**Tablica 1. Koncentracije selena (ppb) u ljulju i ječmenoj slami (Gissel-Nielsen, 1986.)**

**Table 1 Concentrations of selenium (ppb) in ryegrass and barley straw (Gissel-Nielsen, 1986)**

Tretman	Usjev (krmivo) / Crop (Forage)						
	Ljulj (otkosi) / Ryegrass (Cuts)					Ječmena slama / Barley straw	
	1.	2.	3.	4.	Prosjek Average	Jari / Spring	Ozimi / Winter
Kontrola / Control	35	21	61	48	32	25	27
10 g Se (natrijev selenat)	57	27	81	51	45	34	27
20 g Se (natrijev selenat)	110	46	83	54	74	94	43
120 g Se (natrijev selenit)	223	100	131	77	146	62	56
5 g Se (natrijev selenit)	428	59	92	42	202	70	62
Prinos, t suhe tvari/ha Yield, t of dry matter/ha	7,6	8,2	1,0	2,7	19,5 (ukupno / total)	-	6,0

1. otkos = 28. svibnja; 2. otkos = 5. srpnja; 3. otkos = 15. kolovoza; 4. otkos = 4. listopada  
1<sup>st</sup> cut = 28 May; 2<sup>nd</sup> cut = 5 July; 3<sup>rd</sup> cut = 15 August; 4<sup>th</sup> cut = 4 October

usjeva s 5 g Se/ha u obliku selenita. Utvrđeno je povećanje koncentracije selena od nedostatnih do životinjama zadovoljavajućih koncentracija, osim kod tretmana s 10 g Se/ha u obliku selenata. Autori su također utvrdili veće koncentracije selena u ljulju u usporedbi s ječmenom slamom (Tablica 1.).

Nordijske zemlje imaju izražen značajan deficit selena u tlima. Tako je u Finskoj još od ranih osamdesetih godina prošloga stoljeća započelo korištenje gnojidbe tala gnojivima sa selenom s ciljem podizanja njegove razine u usjevima/krmivima. Od 2012. godine su se tla gnojila gnojivima na bazi selena (10 mg/kg Se), kada je došlo do povećanja razine unosa selena u humanoj populaciji u Finskoj, koja je sada optimalna (70-80  $\mu$ g; Alfthan i sur., 2015.). Navedeni autori ističu da je ta količina u novije vrijeme povećana i iznosi 15 mg/kg Se te se tijekom korištenja gnojiva selena njegova koncentracija 15 puta povećala u žitaricama u usporedbi s koncentracijom prije ovoga razdoblja. Tako je posljedično povećana i koncentracija selena u goveđem i svinjskom mesu za šest puta odnosno dvaput, a u mlijeku triput. Navedeno je dovelo i značajnoga povećanja unosa selena u humanoj populaciji i izostanka pojave bolesti zbog nestašice selena u ljudi i životinja (Alfthan i sur., 2015.). Istraživanja provedena u Kanadi (Gupta i MacLeod, 1994.) također ukazuju na povećanje koncentracije selena u crvenoj djetelini, mačjemu repku i talijanskom ljulju gnojidbom pašnjaka selenom.

Dva tjedna po primijenjenoj gnojidbi s 1000 mg/ha selena u vlasulji je utvrđen sadržaj selena od 2,42 mg/kg suhe tvari, nakon 4. i 16. tjedna došlo je do smanjenja sadržaja selena na 1,23 i 0,28 mg/kg suhe tvari, dok se on još dodatno smanjio nakon 22. tjedna na 0,17 mg/kg, što su optimalne koncentracije selena za životinje (McDowell i sur., 2002.). U zaključku autori navode da je najbolje, ali ujedno, zbog napasivanja preživača, i najsigurnije, primijeniti gnojiva selena ujesen ili tijekom rane proljetne gnojidbe dušikom.

Pri gnojidbi usjeva selenom utvrđen je njegov prijenos u biljke, i to pri žetvi pšenice i uljane repice od 1 do 16 %, a kod voluminoznih krmiva (trave) znatno više (46 – 52 % u prvome otkosu i 15 - 19 % u drugome otkosu; Ebrahimi i sur., 2019.). Navedeno je povezano i s biljnom vrstom, klimatskim utjecajem i godišnjim dobom. Naime, višegodišnje trave imaju, za razliku od jednogodišnjih usjeva

(Postma i sur., 2014; Paez Garcia i sur. 2015.), veću i gušću korjenovu biomasu, a isto je tako i bolje iskorištenje selena iz gnojiva i njegovo provođenje do korjenova sustava (Ebrahimi i sur., 2019.). Razlike u prijenosu selena kod višegodišnjih trava između prvoga i drugog otkosa pojašnjavaju se razlikama u intenzitetu razvoja nadzemnih i podzemnih dijelova višegodišnjih trava i usvajanjem hranjiva, koje je pojačano u proljeće, dok se usporava sredinom ljeta (Wang i sur., 2006.), ali i gubitkom jače aktivnosti korijena nakon prve žetve (Evan, 1996.). Primjerice, u godinama s pojačanim oborinama, a pri nižoj temperaturi, potrebna je veća količina selena da se postigne njegova odgovarajuća koncentracija u zrnu/sjemenu.

White i Broadley (2009.) ističu da uspješnost agronomske biofortifikacije (gnojidba ili folijarna primjena selena) uvelike ovisi i o usvajanju korjenova sustava ili folijarne translokacije transportnim putem sumpora zbog sličnosti ovih dvaju elemenata. Oksidacijsko stanje selena (selenat ili selenit) također značajno utječe na učinkovitost biofortifikacije. Razlog može biti brza adsorpcija selenita u glinenim tlima, što smanjuje dostupnost, zatim niža organska tvar u tlima, ali i visoka pH vrijednost tla i manjak padalina te visoke temperature, koje mogu povećati odnos selenata u odnosu na selenit u obradivim tlima (Christophersen i sur., 2012.).

Biofortifikacija tla gnojidbom selenovim gnojivima je češće skuplji način negoli folijarna primjena, jer je potrebno više gnojiva za gnojidbu tala. Ciljana folijarna primjena gnojiva (putem lišća) u odnosu na tretiranje tla mikroelementima učinkovitija je, jer se izbjegavaju vrlo kompleksne reakcije koje se odvijaju u tlu, a dovode do značajnih razlika pri usvajanju dodanih mikroelemenata s obzirom na različite okolišne uvjete i uvjete u tlu. Rezultati istraživanja Watkinsona i Davisa (1967.) ukazuju da je tretiranje lišća djeteline otopinom sa selenitom utjecalo na dobro usvajanje i raspodjelu selena unutar cijele biljke. U folijarno tretiranoj djetelini koncentracija selena je bila pet puta veća u odnosu na djetelinu koja je rasla na tlu tretiranome selenom.

Pri tome treba voditi računa ne samo o opskrbljenosti tla selenom, nego i o načinu folijarne primjene, kao što su primijenjene količine gnojiva, vrijeme folijarne primjene te vrste biljke/usjeva. Primjerice, fitotoksičnost se može uzrokovati netopivim koncentracijama selena, koje se izravno prskaju

po lišću usjeva/krmiva. Isto tako, i vremenski uvjeti tijekom dana, ali i fenofaza razvoja biljaka, mogu utjecati na učinkovitost folijarne primjene selena na biljke. Naime, treba izbjegavati vjetrovito ili kišno vrijeme za izvođenje folijarne primjene, a kod soje je, primjerice, najbolje folijarno tretirati biljke u fenofazi cvatnje (Lončarić i sur., 2018.).

Primjena natrijeva selenata i kalijeva selenata osigurava odgovarajući sadržaj selena koji je odmah na raspolaganju usjevima/biljkama, dok se primjenom selenita ili slabije topivoga oblika selenata (barij selenat) osigurava željeni učinak tijekom duljega razdoblja (Broadley i sur., 2006.).

U istraživanju Filley i sur. (2007.) provedena je gnojdba selenom tala zasijanih višegodišnjim travama (ljulj – *Lolium perenne* i podzemna djetelina – *Trifolium subterranean*) s ciljem utvrđivanja utjecaja različitih oblika selena na rast zasijanih trava, ali i sadržaj te nakupljanje koncentracija selena u njima. Uz kontrolni tretman (bez selena), provedena je gnojdba i s 0,6 kg/ha selena (natrij selenat) te 0,6; 1,1 i 2,2 kg/ha selena (natrijev selenit) na tlima s nedostatnim razinama selena u jugozapadnome Oregonu (SAD). Ovce su napasane na istraživanim pašnjacima tijekom prve godine ujesen, a uzorci paše uzimani su u proljeće. Primjena 0,6 kg/ha selena (natrijev selenat) utjecala je na značajno veći sadržaj selena u paši/krmu ( $P < 0,01$ ; 8,44 mg/kg ST-a) u prvoj godini istraživanja u usporedbi sa svim drugim tretmanima. Usporedbom tretmana sa 0,6 i 2,2 kg/ha natrijeva selenita utvrđena je značajno viša koncentracija selena (1,17 i 4,24 mg/kg ST-a) u odnosu na kontrolu (0,09 mg/kg ST-a), dok je tretman s 1,1 kg/ha natrijeva selenita također utjecao na trend povećanja ( $P = 0,06$ ) koncentracija selena u krmu s pašnjaka (3,11 mg/kg ST-a). Protekom dviju godina u odnosu na gnojdbu tala provedenu selenovim gnojivima samo je kod tretmana s 0,6 kg/ha natrijeva selenata i 2,2 kg/ha natrijeva selenita utvrđeno značajno povećanje ( $P = 0,04$  i  $P = 0,01$ ) koncentracije selena u krmu (0,43 i 0,561 mg/kg selena) u odnosu na kontrolu. Gnojdba selenovim gnojivima u prvoj godini istraživanja nije utjecala na prinos zelene mase s pašnjaka. Autori su zaključili da gnojdba tala selenovim gnojivima (selenitom i selenatom) povećava koncentracije selena u krmu do dvije godine, što može biti isplativa metoda kvalitetne opskrbe selenom u pašnih životinja.

Hambuckers i sur. (2010.) utvrdili su nižu koncentraciju selena u livadnim travama u istočnoj Belgiji, koja je bila ispod hranidbenih potreba za životinje, pa su navedene promjene povezali s nedostatkom selena u tlima te nižom pristupačnošću selena iz tla s obzirom na oblik zastupljenosti u tlu i klimatske prilike lokaliteta. Autori su istraživali livadne biljne vrste s dominacijom vunenaste medunike te utvrdili nisku srednju koncentraciju selena od  $83 \mu\text{g/kg}$  ( $< 100 \mu\text{g/kg}$ , što je minimalna koncentracija za sisavce). Nakon toga su proveli istraživanje gnojdbom tla natrijevim selenatom (9 g/ha Se), što je dovelo do povećanja koncentracija selena u livadnim travama ( $83 \mu\text{g/kg}$ ) do optimalnih koncentracija za životinje. Značajan problem pri biofortifikaciji s višim koncentracijama selena (više od preporučenih koncentracija od 200 do  $300 \mu\text{g/kg}$ ) pašnjaka i travnjaka mogu izazvati prekomjerne količine selena u krmivima/biljkama te tomu treba posvetiti dodatnu pozornost.

Folijarno tretiranje lucerne selenom i cinkom provedeno je u istraživanjima u Srbiji (Subotica; Petković i sur., 2019.) s više tretmana (kontrola bez gnojdbi, 5 g Se/ha, 10 g Se/ha, te tretmani s cinkom i kombinacijom Zn i Se). Primjena selena nije imala utjecaja na prinos lucerne niti na sadržaj sirovih bjelančevina te sadržaj P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Mo i Co u sijenu lucerne. Utvrđeno je povećanje Se, ali i Zn i Cu, pri povećanju količine primijenjenoga minerala na lucerni.

U istraživanju Wanga i sur. (2021.) utvrđeno je linearno povećanje selena u krmu (0,11 u kontroli bez dodatka selena te od 2,06 do 4,15 mg/kg suhe tvari) kako su se povećale i folijarno primijenjene količine selena (udvostručena količina natrijeva selenata od 45 do 90 g Se/ha). Hall i sur. (2023.) zaključili su da su 82 % apsorbiranoga selenata u krmivima konvertirana u selenometionin, što ukazuje na učinkovitu konverziju selenata u selemetionin u krmivima. Uz biljnu vrstu, i košnja krmiva također značajno utječe na sadržaj selena u krmivima tijekom vegetacijske sezone, pa tako u krmivima prvoga i drugog otkosa dolazi do gotovo ukupnoga iznošenja dodanih količina selena (87 % i 9 %) kada je dodan natrijev selenat. Navedeno ukazuje na ograničenu sposobnost zadržavanja selenata u tlima. U usporedbi s mahunarkama, trave u prvim dvama otkosima imaju veći sadržaj selena nakon njegova dodatka kao natrijeva selenata. U dvije studije koje su također provedene u Oregonu (SAD)

primijenjen je natrijev selenat folijarno na lucernu u količini od 45 i 90 g/ha Se kada su se nakon druge košnje povećale koncentracije selena u sijenu lucerne, s 0,34 mg/kg Se u suhoj tvari (kontrola bez selena) na 2,42 i 5,17 mg/kg Se (Wallace i sur., 2017.), odnosno s 0,006 mg/kg Se u suhoj tvari (kontrola bez selena) na 3,47 i 90 mg/kg Se (Hall i sur., 2020.).

Proljetnim folijarnim tretmanom s različitim dozama natrijeva selenata (0, 45 i 90 g Se/ha) tretirane su trave (klupčasta oštrica, djetelinsko-travna smjesa i lucerna) te njihova kombinacija, uz prilagodbu s NPK/PKS gnojivom s ciljem istraživanja rasta, sadržaja N, S i Se te prinosa i agronomске učinkovitosti u području Oregona, SAD (Hall i sur., 2023.). Trave su sporije rasle i imale niži sadržaj N kada nije primijenjena gnojidba NPK-om/PK-om. Utvrđene koncentracije selena u krmivima bile su niske bez folijarne primjene selena, a dodatno su se smanjile koncentracije selena u tretmanima u kojima je provedena gnojidba NPKS-om/PKS-om. Folijarno tretiranje selenom dovelo je do linearnoga povećanja selena u krmi bez štetnoga utjecaja na koncentracije N i S te agronomsku učinkovitost N i P. Autori su zaključili da je istovremena prilagodba NPKS/PKS gnojiva i folijarno selenata u proljeće učinkovita strategija povećanja ukupnoga selena u krmi, uz održavanje optimalnoga rasta i kvalitete krmiva u Oregonu.

Još uvijek se provode istraživanja s ciljem utvrđivanja optimalne količine selena koja se dodaje po hektaru poljoprivredne površine, ali se može reći da je utvrđeno linearno povećanje koncentracija selena u krmivima/usjevima pri njegovoj primjeni na tlima (Hall i sur., 2009.; Wallace i sur., 2017.). Brummer i sur. (2014.) preporučuju količine od 12,4 do 24,7 g Se/ha. Međutim, u istraživanjima brojnih autora pokazalo se da su utvrđene zdravstvene prednosti primjene supranutritivnih koncentracija selena, osobito s tala niskoga sadržaja selena kada je dodano 22,5, 45 i 90 g Se/ha. Osobito se dodatci selena preporučuju u goveda i ovaca u visokozahtjevnim proizvodnim fazama (visoka gravidnost, laktacija i tov).

Razvojem nanotehnologije dolazi i do osmišljavanja brojnih nanomaterijala/čestica koji imaju široku mogućnost primjene u agrosektoru. Tako je došlo i do razvoja selenovih nanočestica (SeNPs), koje su uvelike aktivnije od osnovnih oblika selena s različitim putovima sinteze. Selenove nanočestice razlikuju se po obliku i veličini, a sintetiziraju se iz

prekursora selena, najčešće iz selenita i selenata, uz neke redukcijske tvari (npr. bjelančevine, fenole, alkohole i amine) koje proizvode bakterije, gljive i biljni ekstrakti (Nayantara Kaur, 2018.). Preliminarna istraživanja ukazuju da su one niže toksičnosti od anorganskih izvora selena (Borowska i Jankowski, 2021.), što je potrebno dodatno potvrditi. Biofortifikacija biljaka selenovim nanočesticama povećava otpornost na stres i pozitivno utječe na njihov metabolizam, pospješuje rast, poboljšava status hranjivih tvari u tlu te povećava koncentracije antioksidanasa u biljkama (Samynathan i sur., 2023.). Međutim, još uvijek nema sveobuhvatnih rezultata vezanih uz toksičnost primjene i buduće smjerove razvoja primjene selenovih nanočestica u ishrani različitih biljnih vrsta (Bano i sur., 2021.).

U dostupnoj literaturi može se naći vrlo malo referenca o istraživanjima vezanim uz utvrđivanje učinaka biofortifikacije selenom na brojne druge sastojke/hranjive tvari koje sadržavaju biljke/usjevi. Ove učinke posebno je važno istražiti s obzirom da usjevi/hrana obogaćeni selenom sadrži brojne druge hranjive tvari važne za proizvodnost i zdravlje životinja.

Učinak različitih koncentracija selenovih nanočestica (3, 30, 50, 100, 150 i 250 mg/l) na rast lucerne u Kini istraživali Sun i sur. (2023.) te su utvrdili da je tijekom više otkosa koncentracija 50 mg/L selenovih nanočestica imala najbolji učinak na prinos lucerne, ali i da su niske koncentracije nanoselena (30 i 50 mg/L) tijekom dužega razdoblja značajno povećale aktivnost peroksidaze i superoksid dismutase, sadržaj klorofila i karotenoida te značajno smanjile sadržaj malondialdehida. Sadržaj ukupnoga selena u biljkama pokazao je uzlazni trend povećanjem koncentracija dodanih selenovih nanočestica. Stoga autori sugeriraju da bi koncentracija dodanih selenovih nanočestica od 50 mg/L bila optimalno rješenje za folijarnu primjenu kod lucerne s obzirom na pozitivan učinak na rast i prinos zelene mase lucerne, ali i potrebu daljnjih istraživanja vezanih uz putove usvajanja selenovih nanočestica.

Istraživanja u Mekisku (González-Lemus i sur., 2022.) provedena folijarnom gnojdbom trstaste vlasulje s tri tretmana selenovih nanočestica (0,1,5, 3,0 i 4,5, mg/mL) pokazala su značajan utjecaj na morfološka svojstva trave (veličina korijena, visina biljke i proizvodnja biomase) i fizikalno-kemijske pokazatelje (sadržaj sirovih bjelančevina, lipida, sirovih

vlakana, neutralnih i kiselih deterdžentskih vlakana, ugljikohidrata, sadržaj ukupnih fenola te sadržaj ukupnih flavonoida i tanina), kvantifikaciju selena i antioksidativno djelovanje. Najbolji rezultati dobiveni su u tretmanima s folijarnom primjenom 3,0 i 4,5 mg/mL s obzirom na veličinu korijena (12,79 i 15,59 cm) i visine biljke (26,18 i 29,34 cm). Najviši sadržaj selena utvrđen je kod folijarne primjene s 4,5 mg/L selenovih nanočestica u sva tri otkosa (0,3215, 0,3191 i 0,3218 mg/kg suhe tvari), kao i kod ukupnih fenola (249,56, 280,02 i 274 mg EAG/100 g suhe tvari), ukupnih flavonoida (63,56, 64,96 i 61,16 mg QE/100 g suhe tvari) te najvećega antioksidativnog kapaciteta (284,26, 278,35 i 289,96 mg/AEE/100 g).

Escalona-Tenorio i sur. (2024.) ističu da je sve više načina korištenja selenovih nanočestica u poljoprivredi, od dodavanja/gnojidbe u tlo do hidroponske ili folijarne primjene. Brojni su pozitivni učinci pri primjeni selenovih nanočestica u biljkama. Prije svega je to pomoć biljkama u obrani od štetnika i bolesti uzrokovanih bakterijama i gljivicama, zatim vrijedan izvor ovoga elementa te promicanje metaboličkih/biokemijskih putova, što sve dovodi do povećanja prinosa biljaka, ali i poboljšanja njihove nutritivne vrijednosti, uz ublažavanje abiotičkoga stresa kod biljaka (Garza-García i sur., 2022.).

U istraživanju Suna i sur. (2024.) provedenome s lucernom u Kini pri folijarnome tretiranju nanoselenom (50 mg/L otopine nanoselena triput tijekom faze rasta lucerne) utvrđeno je značajno povećanje sadržaja sirovih bjelančevina, topivih ugljikohidrata

te ukupnoga i organskog selena u svježim uzorcima silaže lucerne i nakon kompletnoga postupka siliranja, ali se smanjio sadržaj vlakana (kisela i deterdžentska vlakna). Utvrđeno je također da je došlo do značajno većega konvertiranja selena u biljkama lucerne biofortificirane selenom u organski oblik, i to uglavnom u selenometionin i metilselenocistein. Osim toga, u silaži lucerne biofortificirane selenom utvrđeno je i povećanje mliječne kiseline, smanjenje pH vrijednosti, promjena raznolikosti bakterija, s naglaskom na rast korisnih bakterija za proces siliranja, te značajno viša probavljivost *in vitro* glede suhe tvari i vlakana silaže lucerne biofortificirane selenom.

#### *Hranidba preživača biofortificiranim voluminoznim krmivima sa selenom*

U hranidbi preživača istraživanja s biofortificiranim voluminoznim krmivima sa selenom obuhvaćaju ispitivanja krmiva biofortificiranih selenom putem gnojidbe tala ili folijarnom primjenom selenovih gnojiva, dok istraživanja o primjeni krmiva biofortificiranih selenom putem nanoselena u dostupnoj literaturi nisu pronađena.

Gnojidba tala pašnjaka granulama selena (17 g Se/ha u obliku selenata) tijekom jedne godine na Novome Zelandu povećala je koncentracije selena u krvi pašnih životinja (ovce, goveda i konji) na zadovoljavajuće razine s ciljem sprječavanja nedostatka selena prilikom konzumacije mesa podrijetlom od tako napasanih pašnih životinja u humanoj populaciji (Hupkens i sur., 1977.).

**Tablica 2. Prosječne koncentracije selena (ppm) u bermudskoj travi u tjednima nakon folijarne primjene natrij selenata**

**Table 2 Average concentrations of selenium (ppm) in Bermuda grass in the weeks after foliar application of sodium selenate**

Razina dodanoga selena (g/ha) Level of added selenium	Tjedni nakon folijarne primjene Weeks after foliar application					Prosjek Average
	2.	4.	6.	12.	18.	
0	1,43 <sup>a</sup>	0,92 <sup>a</sup>	1,45 <sup>a</sup>	0,52 <sup>a</sup>	0,43 <sup>a</sup>	0,95 <sup>d</sup>
24	2,91 <sup>a</sup>	2,71 <sup>a</sup>	2,25 <sup>a</sup>	0,65 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	1,86 <sup>d</sup>
120	12,83 <sup>a</sup>	6,33 <sup>b</sup>	4,82 <sup>bc</sup>	0,48 <sup>c</sup>	0,58 <sup>c</sup>	5,01 <sup>de</sup>
240	26,09 <sup>a</sup>	15,53 <sup>b</sup>	11,92 <sup>b</sup>	0,75 <sup>c</sup>	0,99 <sup>c</sup>	11,05 <sup>e</sup>
480	51,49 <sup>a</sup>	28,17 <sup>b</sup>	25,67 <sup>b</sup>	0,72 <sup>c</sup>	0,71 <sup>c</sup>	21,35 <sup>f</sup>

<sup>abc</sup>za svaki tjedan, prosjeci unutar reda imaju različita slova (P < 0,05); <sup>def</sup>za svaku primijenjenu razinu selena, prosjeci između kolona imaju različita slova (P < 0,05)

<sup>abc</sup>for each week, the averages within the rows bear different letters (P < 0.05); <sup>def</sup>for each applied selenium level, the averages between the columns bear different letters (P < 0.05)

Istraživanja u sjevernoj Floridi provedena folijarnom primjenom natrijeva selenata na pašnjacima temeljenima na bermudskoj travi (zubači) prikazana su u radu Vallea i sur. (1993.). Bermudska trava folijarno je tretirana natrijevim selenatom u različitim količinama po hektaru (0, 24, 120, 240 i 480 g/ha), a uzimanje uzoraka trave za analizu selena provedeno je 2., 4., 6., 12. i 18. tjedna nakon folijarne primjene. Bermudska trava tretirana s 24 g/ha imala je odgovarajuće koncentracije selena za domaće životinje tijekom svih uzorkovanja/ košnja. Količine selena od 120, 240 i 480 g/ha rezultirale su toksičnim koncentracijama selena u krmi do 6. tjedna nakon folijarne primjene. Međutim, do 12. su tjedna koncentracije selena bile netoksične i dovoljne za zadovoljavanje potreba domaćih životinja, kao i koncentracije utvrđene u krmi 18. tjedna nakon folijarne primjene. Autori predlažu da folijarna primjena natrijeva selenata u količini 24 g/ha selena može biti prikladna za kvalitetnu opskrbu pašnih domaćih životinja selenom (Tablica 2).

Korištenje granula selena (*Se/cote*® selenat) i sporo otpušajućega barijeva selenata u količini od 10 i 20 g Se/ha na pašnjacima u Zapadnoj Australiji istraživali su tijekom triju godina Whelan i sur. (1994. ab). Na pašnjaku su napasane ovce, a opterećenje pašnjaka je bilo 3 ovce/ha. U prvoj godini istraživanja polovica ovaca tretirana je i buražnim bolusima sa selenom. Korištenjem gnojiva *Se/cote* došlo je do brzoga povećanja koncentracija selena u punoj krvi i plazmi ovaca napasanih na pašnjacima, s maksimalnim koncentracijama u sedmome tjednu ispaše, a nakon toga su, sve do 15 mjeseci, koncentracije opadale s obzirom na utvrđene nedovoljne koncentracije selena u paši. Gnojivo sa sporo otpušajućim selenom osiguralo je odgovarajuću količinu selena u krvi ovaca tijekom istraživanja sve tri godine, kao i povećanje tjelesne mase i prinosa vune u ovaca. Također je utvrđeno da je plazma osjetljiviji pokazatelj trenutne opskrbe ovaca na ispaši selenom negoli je to njegova koncentracija u punoj krvi.

Istraživanja s primjenom komercijalnoga gnojiva, koje čini jezgra slabo topivoga barijeva selenata s premazom visoko topivoga natrijeva selenita, korištena su u Južnoj Africi (Cloete i sur., 1999.) pri napasivanju ovaca na takvim pašnjacima. Tretman je obuhvaćao gnojidbu tala pašnjaka s 1 kg/ha gnojiva s oko 10 % selena na pašnjacima s perastom oštrom travom tijekom dviju godina. Na tretiranim pašnjacima napasani su ovnovi pasmine merino u

dobi od 9 mjeseci s opterećenjem pašnjaka 20 životinja/ha. Utvrđeno je značajno povećanje koncentracije selena u ovaca u punoj krvi, jetri i bubrežima najmanje 5 mjeseci nakon primjene gnojiva.

Moorhouse i sur. (1999.) proveli su dvogodišnje istraživanje koncentracija selena u krvi i praćenje rasta ovaca napasanih na pašnjacima gnojenima različitim dodatcima selena na Novome Zelandu. Mješavina gnojiva sa selenom (1 kg Se/ha) poprskana je po tlima na kojima je nakon toga zasijana djetelinsko-travna smjesa. Opterećenost pašnjaka bila je 30 životinja/ha pašnjaka. Praćenje tjelesne mase i koncentracije selena u krvi provedeno je dvotjedno tijekom prvih 4 mjeseca istraživanja, a potom jednom mjesečno. Za razliku od kontrolne skupine, utvrđen je pozitivan utjecaj na povećanje koncentracija selena u krvi ovaca i njihove janjadi kod pokusnih skupina, dok tjelesna masa nije varirala. Autori sugeriraju da ovakav način gnojidbe tala pašnjaka selenom za napasivanje ovaca može biti dugoročna strategija povećanja koncentracija selena u krvi ovaca napasanih na pašnjacima na Novome Zelandu.

U Oregonu (SAD) su Hall i sur. (2009.) ispitivali status selena u ovaca koje su kraće vrijeme hranjene krmivima s visokim sadržajem selena ili mineralnoga dodatka u obroke (natrijev selenit). Ovce koje su napasane na pašnjacima bez dodatka selena pokazivale su do kraja pašne sezone znakove nedostatka selena. Gnojidba pašnjaka komercijalnim gnojivom *Se/cot ultra*® provedena je s 3,4 kg/ha i 67,4 kg/ha N. Ovce su podijeljene u dvije skupine od po 15 životinja. Pokusna skupina ovaca napasana je na pašnjaku koji je gnojen selenom bez mineralnoga dodatka 40 dana, a kontrolna skupina napasana je na pašnjaku koji nije gnojen selenom, ali je dobivala mineralni dodatak koji je sadržavao 200 mg/kg natrijeva selenita. Status selena u ovaca utvrđivan je do 9 mjeseci po provedbi istraživanja. Za razliku od kontrolne skupine (286 ng/mL), utvrđena je značajno viša koncentracija selena odmah po tretmanu kod pokusne skupine ovaca napasanih na pašnjacima gnojenima selenovim gnojivom (573 ng/mL), a na kraju (9 mjeseci) je utvrđena još značajnija razlika (97 : 61 ng/mL). Nisu utvrđeni klinički znakovi nedostatka selena niti u jednoj grupi ovaca. Autori su zaključili da kratkotrajno napasivanje ovaca na pašnjacima biofortificiranima selenom poboljšava zdravstveni status i produktivnost stada, ali pomaže i u održavanju potrebnih koncentracija selena u krvi ovaca tijekom razdoblja ispaše, kada se ne primjenjuju dodatci selena.

Kratkotrajno napasivanje junadi na paši gnojnoj selenovim gnojivima povećalo je koncentracije selena u ukupnoj krvi unutar nekoliko tjedana, što je dovoljna količina selena za održavanje odgovarajućih koncentracija tijekom razdoblja ispaše, kada nema pristupa mineralnim dodacima u koje je uključen i selen (Hall i sur., 2011.). Međutim, kratkotrajna napasivanje na takvoj paši (42 dana) nije dovoljno za kontinuirano održavanje optimalnih koncentracija selena u istraživanih životinja.

Hall i sur. (2013.) istaknuli su da su u odbijene teladi povećane potrebe za selenom tijekom razdoblja stresa (odbiće i prelazak u tov). U istraživanje je uključeno 60 tek odbijene teladi, koja je podijeljena u 4 skupine i tijekom 7 tjedana hranjena obrocima temeljenima na sijenu lucerne (iz druge košnje), koje je uzgajano na tlima gnojenima natrijevim selenatom (0, 22,5, 45 i 89,8 g Se/ha) odmah nakon prve košnje. Utvrđeno je značajno linearno povećanje koncentracija selena u sijenu lucerne kako je povećana količina dodanoga selena (0,07, 0,95, 1,55 i 3,26 mg Se/kg suhe tvari). Također su linearno povećane i koncentracije selena u krvi teladi ( $P < 0,001$ ) i tjelesne mase teladi ( $P < 0,002$ ). Na temelju dobivenih rezultata autori predlažu gnojidbu tala selenom kao potencijalnoga sredstva za poboljšanje statusa selena i performansa teladi po odbiću u područjima s niskom koncentracijom selena u tlima na kojima se uzgaja krma za hranidbu teladi.

Séboussi i sur. (2015.) istražili su gnojidbu tala selenom (gnojivo *Selcote ultra*®) za proizvodnju voluminoznih krmiva (mačji repak i lucerna) za silažu koja se koristila u prvotelki Holstein pasmine Holstein. U usporedbi sa silažom krmiva s netretiranih polja (0,05 mg/kg Se), tako proizvedena silaža sadržavala je 1,72 mg/kg Se. Skupina krava hranjena silažom pripremljenom od biofortificiranih krmiva sa selenom imala je bolju dostupnost selena (manje izlučenoga selena u izmetu i urini za 16 i 22 %), višu koncentraciju selena u serumu i mlijeku (za 16 i 11 %), ali i niži broj somatskih stanica u mlijeku u usporedbi sa skupinom krava hranjenom silažom napravljenoj od netretiranih krmiva s dodatkom seleniziranoga kvasca. Autori su zaključili da je korištenje biofortificiranih krmiva sa selenom za stočnu hranu učinkovita metoda za kvalitetnu opskrbu mliječnih krava selenom.

U prethodnim su istraživanjima Hall i sur. (2020.) pri hranidbi odbijene teladi biofortificiranim sijenom lucerne sa selenom (natrijevim selenatom) utvrdili smanjenje pojavnosti bolesti i uginuća teladi u tovu. U navedenome istraživanju, koje je trajalo 9 tjedana, prikazan je utjecaj supranutritivnih dodataka selena (sijeno lucerne biofortificirano selenom — natrijevim selenatom) u hranidbi odbijene teladi pasmine Angus na nazalni mikrobiom i prisutnost fekalnih parazita. Biofortifikacija natrijevim selenatom (od 0 do 90 g Se/ha) provedena je i na tlu i folijarno na lucerni (10 cm visine) od koje je spremljeno sijeno. Obrok sijena koji je davan teladi sastojao se od 85 % sijena lucerne i 15 % sijena trava. Tijekom prva tri tjedna tranzicijskoga razdoblja telad je konzumirala sijena od 0,68 kg/teletu/danu do 3,41 kg/teletu/danu, a prvoga tjedna ukupna konzumacija sijena bila je 6,82 kg/teletu/danu. Nakon toga povećavana je dodatno konzumacija sijena lucerne i u drugome je tjednu iznosila od 3,41 do 5,91 kg/teletu/danu, a u trećem tjednu 6,36 kg, s ukupnom konzumacijom sijena od 7,73 kg. I nadalje je povećavana konzumacija sijena lucerne, koja je u 4., 5. i 6. tjednu bila od 6,36 do 7,27 kg/teletu/danu, s ukupnom konzumacijom sijena od 7,73 do 8,64 kg/teletu/danu, dok je u 8. i 9. tjedna konzumacija sijena lucerne bila 7,73 kg/teletu/danu, a ukupna konzumacija sijena između 8,18 i 9,09 kg/teletu/danu. Koncentrirani dio peletiranoga obroka, temeljen na žitaricama, konzumiran je u količini od 0,45 kg/teletu/danu u trećem tjednu tova te se povećavao do 0,68 kg/danu/teletu do devetoga tjedna tova i davan je prije ponude sijena teladi. Ukupan unos selena iz hrane iznosio je po teletu 1,09 i 27,45 mg Se, a samo od sijena lucerne od 0,06 do 3,47 mg/kg Se u suhoj tvari. Utvrđeno je povećanje koncentracija selena u ukupnoj krvi teladi (140 do 556 ng/mL;  $P < 0,001$ ), povećanje tjelesne mase ( $P = 0,003$ ) i klaoničke mase trupa te raznolikost nosnoga mikrobioma i mikrobiote, dok nije utvrđen utjecaj na broj fekalnih parazita, koji je ostao nizak. Navedene promjene mogu se djelomično povezati i s prednostima korištenja visokih doza selena u prevenciji kompleksa respiratornih bolesti kod goveda i teladi.

Wallace i sur. (2017.) istraživali su 45 visokogravidnih krava (8 – 12 zadnjih tjedana gravidnosti) pretežito pasmine Angus, hranjenih sijenom lucerne biofortificiranim selenom (natrijev selenit ili

selenat), i to gnojdbom i prskanjem na tlo — lucerište. Formirane su tri skupine krava s obzirom na hranidbeni tretman, i to kontrolna skupina hranjena sijenom lucerne i mineralnim dodatkom (120 mg/kg Se iz natrijeva selenita), skupina hranjena sijenom lucerne obogaćenim selenom (45 g Se/ha, natrijeva selenat) i skupina krava hranjena sijenom lucerne obogaćenim selenom (89,9 g Se/ha, natrijev selenat). Obje skupine krava hranjene biofortificiranim sijenom lucerne dobivale su i mineralni dodatak bez selena. Uzorci krvi i kolostrum uzeti su od krava pri teljenju, a od teladi unutar dva sata po teljenju te u vremenu od 12, 24, 36 i 48 sati po teljenju. Utvrđeno je linearno povećanje ( $P < 0,001$ ) koncentracija selena u punoj krvi krava i novorođene teladi te u kolostrumu, s povećanjem koncentracija selena u sijenu lucerne. Također je utvrđeno povećanje koncentracija IgG-a u kolostrumu krava pri hranidbi sijenom lucerne biofortificiranim selenom, dok antitijela za *E. coli* nisu bila povećana. U serumu teladi tijekom prvih 48 sati nisu utvrđene promjene koncentracija IgG-a i razina antitijela za *E. coli*. Autori zaključuju da hranidba visokogavidnih krava sijenom lucerne biofortificirane selenom utječe na nakupljanje selena i antitijela u kolostrumu krava, ali ne utječe na kratkoročne koncentracije antitijela u serumu teladi.

U istraživanjima provedenima u Italiji (Acuti i sur., 2019.) ispitivan je utjecaj hranidbe sardinijskih ovaca u laktaciji obrocima temeljenima na peletiranoj krmnoj smjesi (350 g/dan) s dodatkom lišća masline obogaćenoga selenom (204g lista/kg) na status selena u organizmu. Listovi maslina čija su stabla tretirana selenatom (sadržaj selena u listu 7,83 mg/kg ST-a) dodani su u krmnu smjesu. Ovce su imale i sijeno lucerne po volji. Tijekom istraživanja koje je trajalo 56 dana utvrđeno je značajno povećanje količine mlijeka u ovaca pokusne skupine u usporedbi s kontrolnom skupinom (1,58 : 1,46 L) te povećanje koncentracije selena u mlijeku i krvi, kao i aktivnosti SOD-a u krvi, ali nije bilo promjena u indeksu tjelesne kondicije, kemijskome sastavu mlijeka i drugim krvnim pokazateljima.

Jaff i sur. (2020.) istraživali su u SAD-u utjecaj manjih količina biofortificiranoga sijena lucerne (33 – 37 % suhe tvari obroka) u obrocima krava u suhostaju i ranoj laktaciji na status selena i aktivnost enzima GPx u krvi krava i njihove teladi. U istraživanje

je uključeno 18 prvotelki pasmina Jersey i Holstein, koje su podijeljene u dvije skupine. Kontrolna skupina dobivala je sijeno lucerne (0,43 mg/kg ST Se), a pokusna skupina sijeno lucerne biofortificirano selenom (3,25 mg/kg ST Se), i to u količini 1 kg/100 kg tjelesne mase, koje je pomiješano u TMR-u. Istraživanje je trajalo od 40. dana pred telenje do 2. tjedna poslije telenja. Skupina krava hranjena sijenom lucerne biofortificiranim selenom imala je dva puta veću aktivnost GPx-a u krvi (tj. plazmi i eritrocitima), kao i veće koncentracije selena u jetri i kolostrumu, ali ne i u mlijeku. Također je utvrđena pozitivna korelacija između selena u krvi i aktivnosti GPx-a u eritrocitima i plazmi krava. Telad pokusne skupine također je imala veće koncentracije selena u krvi, kao i nešto veću aktivnost GPx-a. Autori sugeriraju da je hranidba visokogavidnih krava (prvotelki) relativno manjom količinom sijena lucerne biofortificiranoga selenom učinkovit način poboljšanja statusa selena u krvi, jetri i kolostrumu krava, čime se povećava i antioksidativna aktivnost (GPx), dok je uz povećanje koncentracija selena u krvi teladi ona imala skromniji učinak na antioksidativnu aktivnost.

Korištenje selenovih nanočestica zadnjih godina dobiva na značaju i u animalnoj proizvodnji. Iako je korištenje nanoselena u hranidbi preživača još uvijek u potpunosti nedovoljno istraženo, dobiveni rezultati u dosadašnjim istraživanjima pri njihovoj primjeni kao dodatak stočnoj hrani upućuju na značajna poboljšanja (Kachuee i sur., 2019.; Badgar i sur., 2020.; Liu i sur., 2024.). U preglednoj studiji o dosadašnjim spoznajama o primjeni nanoselena u hranidbi preživača, Sitaresmi i sur. (2024.) istaknuli su da kod preživača dolazi do poboljšanja imuniteta i boljega funkcioniranja probavnoga sustava te unaprjeđenja homeostaze, mikrobiote, metabolizma i reprodukcijских svojstava preživača. Međutim, u dostupnoj literaturi nisu pronađena istraživanja vezana uz primjenu krmiva/usjeva biofortificiranih selenovim nanočesticama i njihovo kasnije korištenje u hranidbi preživača.

Uporabom krmiva biofortificiranih selenom u obrocima preživača dolazi do povećanja koncentracija selena u krvi i proizvodima, a posljedično i do poboljšanja proizvodnih i reprodukcijских pokazatelja, ali i do boljega metaboličkog odgovora i održavanja imunostanoga sustava.

## ZAKLJUČAK

Voluminozna krmiva biofortificirana selenom mogu biti vrlo vrijedna osnova pri optimiziranju koncentracija selena u hranidbi preživača. Biofortifikaciju voluminoznih krmiva provodimo različitim oblicima selena (anorganski ili organski) ili selenovim nanočesticama, gnojdbom tala (najčešće pašnjaka i livada) ili folijarnim tretiranjem navedenih biljnih vrsta/usjeva. Za razliku od gnojdbе tala, folijarna primjena gnojiva ima prednost zbog izbjegavanja različitih kompleksnih reakcija u tlu, dok je primjena selenovih nanočestica noviji postupak koji će u budućnosti imati sve veću primjenu. Buduća istraživanja biofortifikacije voluminoznih krmiva selenom trebaju se usmjeriti u pravcu utvrđivanja kako pojedine biljne i životinjske vrste reagiraju glede primjene različitih metoda/postupaka biofortifikacije te opravdanosti primjene selenovih nanočestica. Nadalje, navedena istraživanja trebaju obuhvatiti i utvrđivanje ne samo koncentracije selena i njegovu specijaciju, nego i utvrđivanje različitih nutritivnih sastojaka u biofortificiranim krmivima/usjevima s ciljem optimiziranja i poboljšanja njihove hranjive vrijednosti.

## LITERATURA

- Acuti, G., Forte, C., D'Amato, R., Beghelli, D. Regni, L., Rueca, F., Proietti, P., Businelli, D. Trabalza-Marinucci, M. (2019.): Use of selenium-enriched olive leaves in sheep diets: effects on performance, oxidative status and milk and plasma selenium levels. Boof of Abstract of 23<sup>rd</sup> Congress of Animal Science and Production Association, Soreento, June 11-14, 2019. pp. 88.
- Aladrović, J., Lozančić, I., Lojkić, M., Pušić, I., Pađen, L., Prevendar Crnić, A. (2021.): Fiziološki i toksični učinci selena u životinja. Hrvatski veterinarski vjesnik, 29(1): 22-31.
- Alfthan, G., Eurola, M., Ekholm, P., Venäläinen, E.R., Root, T., Korkalainen, K., Hartikainen, H., Salminen, P., Hietaniemi, V., Aspila, P., Aro, A. (2015.): Effects of nationwide addition of selenium to fertilizers on foods, and animal and human health in Finland: from deficiency to optimal selenium status of the population. J. Trace Elem. Med. Biol., 31: 142–147.
- Antunović, Z. (2015): Hranidba ovaca. U: Specijalna hranidba domaćih životinja. Ur. Domaćinović, M. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. str. 141-226.
- Antunović, Z., Novoselec, J. Klir Šalavardić, Ž. (2020.): Obogaćivanje janječeg mesa selenom. Krmiva, 62(2): 85-96.
- Antunović, Z., Klir Šalavardić, Ž., Sičaja, V., Novoselec, J. (2021.): Obogaćivanje mlijeka malih preživača selenom. Krmiva, 63(2): 75-97.
- Antunović, Z., Novoselec, J. Klir Šalavardić, Ž. (2024.): Biofortifikacija soje selenom. Krmiva, 66(1): 25-35.
- Badgar, K., Prokisch, J. (2020.): The effects of selenium nanoparticles (SeNPs) on ruminant. Proc. Mongolian Acad. Sci. 60(4): 1–8.
- Bano, I.; Skalickova, S.; Sajjad, H.; Skladanka, J.; Horky, P. (2021.): Uses of Selenium Nanoparticles in the Plant Production. Agronomy, 11: 2229.
- Banuelos, G.S., Lin Z.Q., Caton, J. (2023.): Editorial: Selenium in soil-plant-animal systems and its essential role for human health. Frontiers in Plant Science, 14: 1237646.
- Borowska, M., Jankowski, K. (2021.): Green synthesis of selenium nanoparticles: characterization and application. U: Handbook of Greener Synthesis of Nanomaterials and Compounds 2: 171-190.
- Broadley, M.R., White, P.J., Bryson, R.J., Meacham, M.C., Bowen, H.C., Johnson, S.E., Hawkesford, M.J., McGrath, S.P., Zhao, F.J., Breward, N., Harriman, M., Tucker, M. (2006.): Biofortification of UK food crops with selenium. Proceedings of the Nutrition Society, 65(2): 169-181.
- Broadley, M.R., Alcock, J., Alford, J., Cartwright, P., Foot, I., Fairweather-Tait, S.J., Hart, D.J., Hurst, R., Knott, P., McGrath, S.P., Meacham, M.C. (2010.): Selenium biofortification of highyielding winter wheat (*Triticum aestivum* L.) by liquid or granular Se fertilisation. Plant Soil, 332: 5–18.
- Brummer, F. A., Pirelli, G., and Hall, J. A. (2014.): Selenium supplementation strategies for livestock in Oregon in Oregon, EM 9094. Corvallis, OR, USA.
- Christophersen, O.A., Lyons, G., Haug, A., Steinnes, E. (2012.): U: Alloway, B.J., (ed.). Selenium in heavy metals in soils: Trace metals and metalloids in soils and their bioavailability. Springer, Dordrecht, pp. 429-463.
- Cloete, S.W.P., Van Niekerk, F.E., Young, M., Van der Merwe, G.D., Clark, J. (1999.): The application of a selenium fertiliser for the correction of marginal deficiencies in grazing sheep. Journal of the South African Veterinary Association, 70(3): 107–111.

17. Combs, G.F., Jr., Combs, S.B. (1986.): The Role of Selenium in Nutrition. Academic Press, Cambridge, MA, USA, p. 532.
18. Danso, O.P., Asante-Badu, B., Zhang, Z., Song, J., Wang, Z., Yin, X., Zhu, R. (2023.): Selenium Biofortification: Strategies, Progress and Challenges. *Agriculture*, 13: 416.
19. Domaćinović, M. (2006.): Hranidba domaćih životinja. Osnove hranidbe i krmiva. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. str. 439.
20. Ebrahimi, N., Stoddard, F.L., Hartikainen, H., Seppänen, M.M. (2019.): Plant species and growing season weather influence the efficiency of selenium biofortification. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 114: 111–124.
21. EC. (2020.): Commission implementing regulation (EU) 2020/377 of 5 March 2020 concerning the authorisation of sodium selenate as a feed additive for ruminants. OJEU. C/2020/1234. Available online at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content>. (Preuzeto: 24. 4. 2024.).
22. Erdoğan, S., Karadaş, K., Yilmaz, A., Karaca, S. (2017.): The effect of organic selenium in feeding of ewes in late pregnancy on selenium transfer to progeny. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(2): 147-155.
23. Escalona-Tenorio, K., Medina-Pérez, G., Morales-Rodríguez, I., Afanador-Barajas, L.N., LópezPalestina, C. U., & Pérez-Ríos, S. (2024.): Biofortification of forages through the application of selenium nanoparticles. *Agro Productividad*, 17(5): 173-181.
24. Evan, L.T. (1996.): Crop evolution, adaptation and yield. Cambridge University Press, London, 500 pp. ISBN-13: 978-0521295581.
25. Filley, S. J., Peters, P.A., Bouska, C., Pirelli, G., Oldfield, J. (2007.): Selenium Fertilization of Pastures for Improved Forage Selenium Content. *The Professional Animal Scientist*, 23: 144–147.
26. Garza-García, J.J.O., Hernández-Díaz, J.A., Zamudio-Ojeda, A., León-Morales, J.M., Guerrero-Guzmán, A., Sánchez-Chiprés, D.R., López-Velázquez, J.C., García-Morales, S. (2022.): The Role of Selenium Nanoparticles in Agriculture and Food Technology. *Biological Trace Element Research*, 200(5): 2528-2548.
27. Gissel-Nielsen, G. (1986.): Comparison of selenium treatments of crops in the field. *Biological Trace Element Research*, 10: 209–213.
28. Gissel-Nielsen, G. (1998.): Effects of selenium supplementation of field crops. U: *Environmental Chemistry of Selenium* (Eds: Frankenberger, W.T., Engberg, R.A.), New York, NY: Dekker. pp. 99–112.
29. González-Lemus, U., Medina-Pérez, G., Espino-García, J.J., Fernández-Luqueño, F., Campos-Montiel, R., Almaraz-Buendía, I., Reyes-Munguía, A., Urrutia-Hernández, T. (2022.): Nutritional Parameters, Biomass Production, and Antioxidant Activity of *Festuca arundinacea* Schreb. Conditioned with Selenium Nanoparticles. *Plants*, 11: 2326.
30. Gupta, U.C., McRae, K.B., Winter, K.A. (1982.): Effect of applied selenium on the selenium content of barley and forages and soil selenium depletion rates. *Can. J. Soil Sci.*, 62: 145–154.
31. Gupta, U. C., i J. A. MacLeod (1994.): Effect of various sources of selenium fertilization on the selenium concentration of feed crops. *Can. J. Soil Sci.*, 74: 285.
32. Gupta, U.C., Gupta, S.C. (2000.): Selenium in soils and crops, its deficiencies in livestock and humans: Implications for management. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 31 (11-14): 1791-1807.
33. Gupta, U.C., Gupta, S.C. (2002.): Quality of animal and human life as affected by selenium management of soils and crops. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 33: 15–18.
34. Hall, J. A., Van Saun, R. J., Nichols, T., Mosher, W., Pirelli, G. (2009.): Comparison of selenium status in sheep after short-term exposure to high-selenium-fertilized forage or mineral supplement. *Small Ruminant Res.* 82(1): 40–45.
35. Hall, J.A., Harwell, A.M., Van Saun, R.J., Vorachek, W.R., Stewart, W.C., Galbraith, M.L., Hooper, K.J., Hunter, J.K., Mosher, W.D., Pirelli, G.J. (2011.): Agronomic Biofortification with Selenium: Effects on Whole-blood Selenium and Humoral Immunity in Beef Cattle. *Animal feed science and technology*, 164: 184-190.
36. Hall, J.A., Bobe, G., Hunter, J.K., Vorachek, W.R., Stewart W.C., Vanegas, J.A., Estill, C.T., Mosher, W.D., Pirelli, G.J. (2013.): Effect of Feeding Selenium-Fertilized Alfalfa Hay on Performance of Weaned Beef Calves. *PLoS One*, 8(3): e58188.
37. Hall, J. A., Isaiah, A., Bobe, G., Estill, C.T., Bishop-Stewart, J. K., Davis, T. Z., Suchodolski, J. S., Pirelli, G. J. (2020.): Feeding selenium-biofortified alfalfa hay during the preconditioning period improves growth, carcass weight, and nasal microbial diversity of beef calves. *PLoS One*, 1, 15(12): e0242771.
38. Hall, J.A., Bobe, G., Filley, S.J., Bohle, M.G., Pirelli, G.J., Wang, G., Davis, T.Z., Bañuelos, G.S. (2023.): Impact of selenium biofortification on production characteristics of forages grown following standard management practices in Oregon. *Front. Plant Sci.*, 14: 1121605.

39. Hambuckers, A., Dotreppe, O., Istasse, L. (2010.): Problem of Applying Sodium Selenate to Increase Selenium Concentration in Grassland Plants in Southern Belgium, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 41(11): 1283-1292.
40. Helmer, C., Hannemann, R., Humann-Ziehank, E., Kleinschmidt, S., Koelln, M., Kamphues, J., Ganter, M.A. (2021.): Case of Concurrent Molybdenosis, Secondary Copper, Cobalt and Selenium Deficiency in a Small Sheep Herd in Northern Germany. *Animals*, 11: 1864.
41. Hossain, A., Skalicky, M., Brestic, M., Maitra, S., Sarkar, S., Ahmad, Z., Vemuri, H., Garai, S., Mondal, M., Bhatt, R., Kumar, P., Banerjee, P., Saha, S., Islam, T., Laing, A.M. (2021.): Selenium Biofortification: Roles, Mechanisms, Responses and Prospects. *Molecules*, 26: 881.
42. Hupkens, F.C.C., Van der Elst, Watkinson, J.H. (1977.): Effect of topdressing pasture with selenium-prills on selenium concentration in blood of stock. *N.Z. Journal of Experimental Agriculture*, 5: 79-83.
43. Jaaf, S., Batty, B., Krueger, A., Estill, C.T., Bionaz, M. (2020.): Selenium biofortified alfalfa hay fed in low quantities improves selenium status and glutathione peroxidase activity in transition dairy cows and their calves. *Journal of Dairy Research*, 87(2): 184-190.
44. Kachuee, R., Abdi Benemar, H., Mansoori, Y., Sánchez Aparicio, P., Seifdavati, J., Elghandour, M.M.M.Y., Jiménez Guillén, R., Salem, A.Z.M. (2019.): Effects of sodium selenite, L-selenomethionine, and selenium nanoparticles during late pregnancy on selenium, zinc, copper, and iron concentrations in Khalkhali goats and their kids. *Biol. Trace Element Res.*, 191(2): 389-402.
45. Khanal, D.R., Knight, A.P. (2010.): Selenium: Its role in livestock health and productivity. *J. Agric. Environ.*, 11: 101-106.
46. Kieliszek, M., Błażejczak, S. (2016.): Current Knowledge on the Importance of Selenium in Food for Living Organisms: A Review. *Molecules*, 21: 609.
47. Karwacka, A., Dullin, P., Galbas, M. (2014.): The effects of selenium deficiency in animals. *Adv. Biochem.*, 60(3): 365-370.
48. Khoso, P.A., Pan, T., Wan, N., Yang, Z., Liu, C., Li, S. (2017.): Selenium deficiency induces autophagy in immune organs of chickens. *Biological Trace Element Research*, 177(1): 159-68.
49. Koller, L.D., Exon, J.H. (1986.): The two faces of selenium-deficiency and toxicity—are similar in animals and man. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 50: 297-306.
50. Lee, J.H., Hosseindoust, A., Kim, M.J., Kimm K.Y., Choim Y.H., Lee, S.H., Lee, S., Cho, H.J., Kang, W.S., Chae, B.J. (2020.): Biological evaluation of hot-melt extruded Nano-selenium and the role of selenium on the expression profiles of selenium-dependent antioxidant enzymes in chickens. *Biological Trace Element Research*, 194(2): 536-544.
51. Liu, H., Mao, K., Peng, W., Degen, A., Zuo, G., Yang, Y., Han, J., Wu, Q., Wang, K., Jiang, Q., Zhou, H. (2024.): Nano-Selenium Reduces Concentrations of Fecal Minerals by Altering Bacteria Composition in Feedlot Goats. *Agriculture*, 14: 2233.
52. Lončarić, Z., Martić, M., Rastija, D., Kerovec, D., Sudarić, A. (2018.): Agronomska biofortifikacija soje na tlu siromašnom selenom. U: knjiga sažetaka: „Potencijali tla i zemljišnih resursa: ključne uloge znanosti i učinkovitih politika“ (Urednici: Romić, M., Rastija, D., Popović, B.). Vukovar. Hrvatsko tloznanstveno društvo, str. 52.
53. Lyons, M.P., Papazyan, T.T., Surai, P.F. (2007.): Selenium in food chain and animal nutrition: Lessons from nature-review. *Asian-Aust. Journal of Animal Science*, 20(7): 1135-1155.
54. McDowell, L.R., Valle, G., Cristaldi, L., Davis, P.A., Rosendo, O., Willinson, N.S. (2002.): Selenium availability and methods of selenium supplementation for growing ruminants. *Proc. 13<sup>th</sup> Annual. Florida Ruminant Nutrition Symp.* pp. 86-102.
55. Moorhouse, A.M., Westwood, C.T., Dumbleton, A.J., Donnelly, L.P., Bridger, L.A. (1999.): Effect of selenium applied to pasture on the selenium status of grazing sheep. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 61: 69-73.
56. Nayantara Kaur, P. (2018.): Biosynthesis of nanoparticles using ecofriendly factories and their role in plant pathogenicity: a review. *Biotech. Res. Innov.*, 2(1): 63-73.
57. Novoselec, J., Klir, Ž., Domaćinović, M., Lončarić, Z., Antunović, Z. (2018.): Biofortification of feedstuffs with microelements in animal nutrition. *Poljoprivreda*, 24(1): 25-34.
58. NRC (2016.): *Nutrient requirements of beef cattle. 8th rev. ed.* Washington, DC: The National Academies Press.
59. Paez-Garcia, A., Motes, C.M., Scheible, W.R., Chen, R., Blancaflor, E.B., Monteros, M.J. (2015.): Root traits and phenotyping strategies for plant improvement. *Plants*, 4: 334-355.

60. Pecoraro, B.M., Leal, D.F., Frias-De-Diego, A., Browning, M., Odle, J., Crisci, E. (2022.): The health benefits of selenium in food animals: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 13: 58.
61. Petković, K., Manojlović, M., Čabilovski, R., Krstić, Đ., Lončarić, Z., Lombanaes, P. (2019.): Foliar application of selenium, zinc and copper in alfalfa (*Medicago sativa* L.) biofortification. *Turkish journal of field crops*, 24(1): 81-90.
62. Płaczek, A., Stępień, P., Żarczyński, P., Patorczyk-Pytlik, B. (2019.): Methods for enrichment of animal diets with selenium. *J. Elem.*, 24(3): 1159-1172.
63. Postma, J.A., Schurr, U., Fiorani, F. (2014.): Limiting nutrient availability: linking physiological models and experimentation. *Biotechnol. Adv.*, 32(1): 53–65.
64. Ramkisson, C., Degryse, F., da Silva, R.C., Baird, R., Young, S.D., Bailey, E.H., McLaughlin, M.J. (2019.): Improving the efficacy of selenium fertilizers for wheat biofortification. *Sci. Rep.*, 9(1): 19520.
65. Rosen, B.R., Liu, Z.J. (2009.): Transport pathways for arsenic and selenium: A mini review. *Environ. Int.*, 35: 512–515.
66. Ros, G.H., van Rotterdam, A.M.D., Bussink, D.W., Bindraban, P.S. (2016.): Selenium fertilization strategies for bio-fortification of food: an agro-ecosystem approach. *Plant Soil*, 404: 99–112.
67. Rovers, M. (2014.): New generation of organic selenium for animal nutrition. *Int. Dairy T.*, 13(4): 7-9.
68. Ruseva, B., Himcheva, I., Nankova, D. (2013.): Importance of selenoproteins for the function of the thyroid gland. *Medicine*, 3: 60–64.
69. Sarwar, N., Akhtar, M., Kamran, M.A., Imran, M., Riaz, M.A., Kamran, K., Hussain, S. (2020.): Selenium biofortification in food crops: Key mechanisms and future perspectives. *Journal of Food Composition and Analysis*, 93: 103615.
70. Schiavon, M., Nardi, S., dalla Vecchia, F., Ertani, A. (2020.): Selenium biofortification in the 21st century: status and challenges for healthy human nutrition. *Plant Soil*, 1-26
71. Séboussi, R., Tremblay, G.F., Ouellet, V., Choinard, P.Y., Chorfi, Y., Bélanger, G., Charbonneau, É. (2015.): Selenium-fertilized forage as a way to supplement lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99: 5358–5369.
72. Samynathan, R., Venkidasamy, B., Ramya, K., Muthuramalingam, P., Shin, H., Kumari, P.S., Thangavel, S., Sivanesan, I. A. (2023.): Recent Update on the Impact of Nano-Selenium on Plant Growth, Metabolism, and Stress Tolerance. *Plants*, 12: 853.
73. Sitaresmi, P.I., Hudaya, M.F., Atmoko, B.A., Wulandari, W., Ujilestari, T. (2024.): Production and effects of nanomineral selenium (Nano-Se) feed additive on rumen fermentation, productivity, and reproductive performance of ruminants. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 11(3):782–795.
74. Sobiech, P., Kuleta, Z. (2002.): Usefulness of some biochemical indicators in detection of early stages of nutritional muscular dystrophy in lambs. *Small Rumin. Res.*, 45: 209-215.
75. Sobiech, P., Żarczyńska, K. (2020.): The influence of selenium deficiency on chosen biochemical parameters and histopathological changes in muscles of goat kids. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 23: 267–279.
76. Spears, J.W. (2003.): Trace Mineral Bioavailability in Ruminants. *The Journal of Nutrition* 133, 5: 1506-1509.
77. Sun, P., Wang, Z., Yuan, N., Lu, Q., Sun, L., Li, Y., Zhang, J., Zhang, Y., Ge, G., Jia, Y. (2023.): Evaluation of nano-selenium biofortification characteristics of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Green Processing and Synthesis*, 2: 20228121.
78. Sun, P., Ge, G., Sun, L., Du, S., Liu, Y., Yan, X., Zhang, J., Zhang, Y., Wang, Z., Jia, Y. (2024.): Effects of selenium enrichment on fermentation characteristics, selenium content and microbial community of alfalfa silage. *BMC Plant Biol.*, 24: 555
79. Terry, N., Zayed, A.M., De Souza, M.P., Tarun, A.S. (2000.): Selenium in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 51: 401-432.
80. Turner, R.J., Finch, J.M. (1991.): Selenium and the immune response. *Proceedings of the Nutrition Society*, 50: 275–285.
81. Ylärinta, T. (1985.): Increasing the selenium content of cereal and grass crops in Finland. Ph.D. thesis, University of Helsinki, Yliopistopaino, Finland.
82. Valle, G., McDowell, L. R., Wilkinson, N. S., Wright, D. (1993.): Selenium concentration of bermudagrass after spraying with sodium selenate. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 24(13–14): 1763–1768.
83. Wallace, L. G., Bobe, G., Vorachek, W. R., Dolan, B. P., Estill, C. T., Pirelli, G. J., Hall, J.A. (2017.): Effects of feeding pregnant beef cows selenium-enriched alfalfa hay on selenium status and antibody titers in their newborn calves. *Journal of Animal Science*, 95: 2408–2420.
84. Wang, H., Inukai, Y., Yamauchi, A. (2006.): Root development and nutrient uptake. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 25: 279–301.

85. Wang, G. J., Bobe, G., Filley, S. J., Pirelli, G. J., Bohle, M. G., Davis, T. Z., Bañuelos, G.L., Hall, J.A. (2021.): Effects of springtime sodium selenate foliar application and NPKS fertilization on selenium concentrations and selenium species in forages across Oregon. *Animal Feed Science and Technology*, 276: 114944.
86. Watkinson, J. A., Davies, E. B. (1967.): Uptake of native and applied selenium by pasture species: III. Uptake of selenium from various carriers. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 10(1): 116-121.
87. Whelan, B.R. (1989.): Uptake of selenite fertilizer by subterranean clover pasture in Western Australia. *Aust. J. Exp. Agric.*, 29: 517–522.
88. Whelan, B.R., Peter, D.W., Barrow, N.J. (1994.a): Selenium fertilizers for pastures grazed by sheep. 1. Selenium concentrations in whole blood and plasma. *Australian Journal of Agricultural Research*, 45(4): 863 – 875.
89. Whelan, B.R., Barrow, N.J., Peter, D.W. (1994.b): Selenium fertilisers for pastures grazed by sheep. II. Wooland liveweight responses to selenium. *Australian Journal of Agricultural Research*, 45: 877–887.
90. White, P.J., Broadley, M.R. (2009.): Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets—iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytol.*, 182(1): 49-84.

## SUMMARY

Forage is a primary source of feed for ruminants' nutrition. Thus, the aim of this paper is to present the available research, with a purpose to increase the selenium concentration in forage through selenium biofortification and to determine such feeding concerning the production traits, metabolic response, and antioxidant status. Selenium is an essential element for animals, but its deficiency is widespread in soils worldwide. This is the reason for the detection of appropriate procedures/methods in order to optimize selenium concentrations in human foodstuffs and animal feedstuffs. There are numerous reasons for a pronounced selenium deficiency in the soil-plant-animal-human food chain. One of these procedures is biofortification of crops/feedstuffs aimed for the production of animal feed with the increased selenium concentrations. It is based on the application of mineral fertilizers, which optimizes their application and/or improves the availability and mobilization of minerals in the soil and increases its content in feedstuffs/crops. The inorganic forms of selenium (i.e., selenite and selenate) are mostly used in soil fertilization or foliar application, when the crops transform them into an organic form, with selenate being more available and foliar application being a more efficient and economically acceptable method. Available research has confirmed that biofortification of forage with selenium has proven to be a very successful method in the optimization of selenium concentrations in crops/feeds, with the achievement of appropriate selenium concentrations in the ruminants' organisms.

Keywords: biofortification, selenium, forage, ruminants