

بررسی خواص آنتی اکسیدانتی منابع تغذیه‌ای سلنیوم بر کیفیت اسپرم پرندگان چالش یافته با استرس حاد

نامدار کامرانی M.Sc.، امیر کریمی Ph.D.*، محمدرضا شیخ‌لو Ph.D.

- دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، گروه علوم دامی، تبریز، ایران

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: pekarimi@tabrizu.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۱۸

چکیده

هدف: مطالعه حاضر، به منظور ارزیابی اثرات خوراکی منابع سلنیوم آلی و معدنی بر کیفیت منی خروس چالش‌یافته با دگزامتازون، انجام شد.

مواد و روش‌ها: برای این منظور تعداد ۲۴ قطعه خروس سویه راس ۳۰۸ با سن ۲۸ هفتگی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۶ پرند در هر تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی، تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: (۱) شاهد (Con)، (۲) شاهد+دگزامتازون (Dex)، (۳) سلنیوم آلی (۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک سلنوم‌تیونین)+دگزامتازون (Ose+Dex) و (۴) سلنیوم معدنی (۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک سدیم سلنیت)+دگزامتازون (Ise+Dex). جهت ایجاد استرس اکسیداتیو، مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، دگزامتازون در ۳ نوبت و به صورت یک روز در میان به مدت یک هفته، به همه گروه‌ها به جز گروه شاهد تزریق شد.

نتایج: استفاده از سلنیوم به‌ویژه به شکل آلی خوراکی در گروه Ose+Dex، سبب بهبود فرآسنگه‌های حرکتی اسپرم تحرک کل، (۹۹/۵۶ درصد) و تحرک پیشرونده (۵۹/۰۶ درصد)، زنده‌مانی (۸۷/۷۵ درصد)، یک‌پارچگی غشای پلاسمایی (۸۸/۹۷ درصد) نسبت به گروه Con (به ترتیب: ۷۹/۴، ۴۲/۵۳، ۷۸/۳۳ و ۸۰/۷۸ درصد) و Dex (به ترتیب: ۶۲/۲، ۲۷/۰۳، ۷۳/۵۸ و ۷۱/۹۲ درصد) شد ($p < 0.05$). هم‌چنین پارامترهای بیوشیمیایی از قبیل ظرفیت کل آنتی اکسیدانتی، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز نیز در تیمارهای Ose+Dex (۱/۵۵ U/ml، ۸۵/۹۱ و ۱۴۶/۵۰) و Ise+Dex (۱/۳۷ U/ml، ۶۳/۲۸ و ۱۲۲/۵۴) نسبت به گروه Con (۱/۲۶ U/ml، ۶۵/۲۷ و ۱۲۱/۷۸) و Dex (۱/۰۵، ۵۲/۵۱ و ۱۰۸/۶۲) برتری داشت ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که سلنیوم آلی در مقایسه با سلنیوم معدنی سبب بهبود فرآسنگه‌های تولیدمثل در حیوانات تحت تنش حاد اکسیداتیو می‌شود.

واژگان کلیدی: اسپرم خروس، سلنیوم آلی، سلنیوم معدنی، تنش اکسیداتیو

مقدمه

تنش در پرندگان باعث کاهش راندمان تولیدمثلی و نقصان کیفیت اسپرم در پرندگان نر می‌شود (۱). در پاسخ به تنش، هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی از کورتکس غده فوق کلیوی آزاد شده که برای کنترل هومئوستازی بدن ضروری می‌باشند و نقش مهمی در پاسخ بدن به استرس‌ها دارند (۲). آزادسازی دگزامتازون باعث بروز تنش اکسیداتیو در بدن پرندگان شده که متعاقباً باعث افزایش سطح رادیکال‌های آزاد و آسیب به دستگاه‌های داخلی بدن از قبیل عمل‌کرد تولیدمثلی می‌شد (۳). در این شرایط وضعیت آنتی اکسیدانتی بدن می‌تواند نقش مستقیم بر میزان تاثیرگذاری تنش بر بدن داشته باشد (۳). به‌عنوان یک عنصر ضروری، سلینیوم در فعالیت آنتی اکسیدانتی نقش دارد (۴، ۵). در ارتباط با بخش‌های تولیدمثلی به‌ویژه در جنس نر، بیضه بالاترین غلظت سلینیوم را دارا است (۶). غلظت سلینیوم، نقش محافظتی این عنصر کم‌یاب و آنزیم‌های مرتبط با آن را در طی اسپرماتوژنز نشان می‌دهد (۶). هم‌زمان با بلوغ و شروع اسپرماتوژنز، غلظت سلینیوم در بیضه افزایش می‌یابد و اگر در این دوره غلظت سلینیوم کاهش پیدا کند، اسپرماتوزوای تولید شده نسبت به رادیکال‌های آزاد اکسیژن آسیب‌پذیرتر می‌شد (۷). سلینیوم، جز اصلی سلنوپروتئین‌ها است که در فرآیندهای مهم فیزیولوژیکی مشارکت دارند (۸). گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)، اولین سلنواُنزیم اثبات شده می‌باشد که حاوی سلینیوم بوده و جز ضروری از سیستم آنتی اکسیدانتی موجود در ارگانسیم است (۹). کمبود سلینیوم سبب کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و هم‌چنین افزایش حساسیت سلول‌ها به آسیب اکسیداتیو می‌شوند (۱۰). آنزیم‌های گلوتاتیون پروکسیداز با همکاری ویتامین E از انباشت هیدروپروکسیدهای آلی جلوگیری کرده و به‌حفظ یک‌پارچگی غشا سلولی کمک می‌کنند، فعالیت آنزیمی گلوتاتیون پراکسیداز و ویتامین E به‌طور مستقیم به‌میزان مصرف سلینیوم وابسته است، بنابراین ارتباط قوی بین کمبود سلینیوم و استرس اکسیداتیو وجود دارد (۱۱). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، رادیکال سوپراکسید را تجزیه کرده و به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند، پراکسید هیدروژن نیز توسط آنزیم کاتالاز، به آب و اکسیژن تبدیل می‌شد (۱۳). در صورت کاهش مصرف خوراکی سلینیوم و سایر آنتی اکسیدانت‌ها، فعالیت آن کاهش می‌یابد و رادیکال‌های آزاد منجر به آسیب‌های سلولی می‌شوند (۱۳). منابع مختلف سلینیوم معدنی و آلی با توجه به‌شکل شیمیایی و براساس این‌که کدام‌یک در بدن زودتر متابولیزه و جذب می‌شد تاثیرات مختلفی در عمل‌کرد حیوان دارند (۱۴). اشکال معدنی سلینیوم شامل سلنیت و سلنات‌ها هستند (۱۵) شکل آلی سلینیوم می‌تواند از ترکیبات با اسیدهای آمینه (سلنومتیونین، سلنوسیستئین، کیلات‌های اسیدآمینه و غیره) باشد که به‌نظر می‌رسد موثرتر از شکل معدنی آن هستند (۱۶). مطالعات نشان داده‌اند که گلوکوکورتیکوئیدها، استرس فیزیولوژیک را افزایش داده و سبب سطوح مختلفی از استرس فیزیولوژیک در بافت‌ها و جریان خون می‌شد (۱۷، ۱۸). نشان داده شده است که تزریق دگزامتازون سبب کاهش عمل‌کرد سیستم ایمنی شده و نیز سبب وارد شدن آسیب‌های اکسیداتیو به‌بیومولکول‌های حیاتی مانند ژنوم شده که در نتیجه سبب برخی اثرات بیولوژیک از قبیل تغییر در بیان ژن، جهش و مرگ سلولی می‌شد (۱۹). هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی اثرات خوراکی منابع سلینیوم آلی و معدنی بر کیفیت منی خروس چالش یافته با استرس اکسیداتیو از طریق تزریق دگزامتازون، بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات و تیمارهای آزمایشی: این تحقیق در واحد مرغ‌داری دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز انجام شد. برای این منظور تعداد ۲۴ قطعه خروس با میانگین سن ۲۸ هفتگی در ۴ تیمار و ۶ پرنده در هر تیمار نگاه‌داری شدند و روزانه ۱۵ ساعت روشنایی و ۹ ساعت تاریکی دریافت کردند و تغذیه آن‌ها به‌صورت دستی و براساس استانداردهای تغذیه‌ای

جدول ۱: اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی

خوراکی اقلام	درصد	جیره ترکیب
ذرت	۵۷	انرژی (۲۷۵۰) کیلوکالری در کیلوگرم
سویا	۱۰	پروتئین (۱۲ درصد)
جو	۱۱	متیونین (۰/۳۲ درصد)
سیوس	۱۸	لازین (۰/۵ درصد)
دی‌کلسیم فسفات	۱/۳	ترئونین (۰/۳۸ درصد)
صدف	۱/۶	کلسیم (۰/۷ درصد)
مکمل معدنی ویتامینه	۰/۵	فسفر (۰/۳۵ درصد)
نمک	۰/۳	سدیم (۰/۱۸ درصد)
جوش شیرین	۰/۰۵	کلر (۰/۱۶ درصد)
متیونین	۰/۱۱	اسیدیلینولیک ۱
B ویتامین	۰/۰۱	
E ویتامین	۰/۰۱	
کولین کلراید	۰/۰۱	

(جدول ۱)، در دو نوبت صبح (ساعت ۷) و عصر (ساعت ۵) انجام گرفت و از طریق آب‌خوری نیپلی، دسترسی آزاد به آب داشتند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱-شاهد (Con): مصرف‌کننده جیره پایه، ۲- دگزامتازون (Dex): مصرف‌کننده جیره پایه همراه با تزریق زیر جلدی دگزامتازون، ۳- سلنیوم آلی (مکمل‌سازی جیره پایه با ۰/۳ میلی‌گرم سلنومتیونین بر کیلوگرم خوراک) همراه با تزریق زیر جلدی دگزامتازون (OSe+Dex) و ۴- سلنیوم معدنی (مکمل‌سازی جیره پایه با ۰/۳ میلی‌گرم سلنیت سدیم بر کیلوگرم خوراک) همراه با تزریق زیر جلدی دگزامتازون (ISE+Dex)، بودند. تزریق زیر جلدی دگزامتازون جهت ایجاد استرس اکسیداتیو به مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در ۳ نوبت و به صورت یک روز در میان به مدت یک هفته انجام شد (۱۹) و هم‌چنین در گروه شاهد به طور مشابه تزریق سرم فیزیولوژیکی انجام گرفت. در این پژوهش کلیه موازین اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. پس از ۶ هفته تغذیه برنامه‌های آزمایشی، اسپرم‌گیری از خروس‌ها بعد از تغذیه صبح و حوالی ساعت ۱۱، به مدت ۲ هفته و هفته‌ای ۲ بار به روش مالش شکمی، انجام گرفت (۲۰). آزمایشات مربوط به ارزیابی اسپرم‌ها پس از اسپرم‌گیری و جمع‌آوری و انتقال آن‌ها به آزمایشگاه، بررسی‌های اولیه بر روی نمونه‌های منی جمع‌آوری شده صورت گرفت و اسپرم‌های با تحرک ۷۵ درصد و غلظت مناسب به عنوان اسپرم‌های طبیعی شناخته شده و جهت از بین بردن اثرات فردی، نمونه‌ها با هم مخلوط شدند. محیط رقیق‌کننده مورد استفاده در این آزمایش، رقیق‌کننده بلتسویل به ترتیب با pH و اسمولاریته، ۷/۵ و ۳۴۰ میلی اسمولار بود. مواد تشکیل‌دهنده رقیق‌کننده مذکور از محصولات شرکت مرک (شرکت Merck آلمان) تهیه شد و شامل پتاسیم‌دی‌فسفات (۱۲/۷ گرم در لیتر)، سدیم گلوتامات (۸/۶۱ گرم در لیتر)، فروکتوز (۵ گرم در لیتر)، سدیم استات (۴/۳ گرم در لیتر)، تریس (۱/۹ گرم در لیتر)، پتاسیم سیترات (۰/۶۴ گرم در لیتر)، پتاسیم مونو فسفات (۰/۶۵ گرم در لیتر)، کلراید منیزیم (۰/۳۴ گرم در لیتر) بودند. نمونه‌های منی مخلوط شده به نسبت ۱ به ۲۰ به محیط رقیق‌کننده با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد افزوده و درون بن‌ماری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، انتقال داده شدند. هر یک از نمونه‌ها با هدف بررسی، فرآیندهای حرکتی اسپرم، زنده‌مانی، یک‌پارچگی غشای پلاسمایی، پارامترهای بیوشیمیایی از قبیل، ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانتی، مالون‌دی‌آلدهید، گلووتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مورد ارزیابی قرار گرفتند.

ارزیابی تحرک اسپرم با نرم افزار کاسا: فرآسنجه‌های حرکتی اسپرم از قبیل، تحرک کل، تحرک پیش‌رونده، میانگین سرعت در مسیر، سرعت در مسیر مستقیم، سرعت در مسیر منحنی، خطی بودن تحرک، درصد مستقیم الخط بودن حرکت اسپرم‌ها، تحرک عرضی سر، فرکانس حرکات جانبی برای تیمارهای آزمایشی توسط سیستم آنالیز رایانه‌ای مجهز به میکروسکوپ فاز کنتراست (Labomed LX400, USA) با بزرگ‌نمایی ۴۰ و نرم افزار آنالیز اسپرم (Video test-sperm 3.2, developed by 'Video-Test' LLC, St. Petersburg, Russia) ارزیابی شد. برای این منظور ۱۰ میکرولیتر از نمونه منی رقیق شده به نسبت ۱ به ۲۰ با محلول رقیق‌کننده، را روی لام ریخته و یک لامل تمیز روی آن قرار داده شد (۲۱). سپس فراسنجه‌های جنبایی اسپرم با استفاده از کامپیوتر ارزیابی شد که برای این منظور از کلاسیفایر who2010 و سطح آستانه گذاری تصویر (Object thresholding) ۹۵ درصد استفاده شد (۲۲).

وضعیت زنده‌مانی اسپرم: وضعیت زنده‌مانی اسپرم‌ها به وسیله رنگ‌آمیزی ائوزین-نگروزین بررسی شد. برای این منظور، ۱۰ میکرولیتر منی رقیق شده را با ۲۰ میکرولیتر رنگ ائوزین- نیگروزین روی لام تمیز به آرامی مخلوط کرده و پس از تهیه گسترش و خشک شدن، زنده‌مانی تعداد ۲۰۰ اسپرم به وسیله میکروسکوپ نوری (Olympus, Japan) با بزرگ‌نمایی ۴۰× مورد بررسی قرار گرفت. برای تهیه رنگ ائوزین- نیگروزین ۱/۶۷ گرم رنگ ائوزین، ۱۰ گرم رنگ نیگروزین و ۲/۹ گرم سیترات سدیم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر با دمای ۸۰ درجه حل شد و سپس به منظور بهتر حل شدن رنگ، مگنتی داخل محلول قرار گرفته و از هیتر ۸۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد و ترکیب نهایی رنگ مورد استفاده آماده شد. در این رنگ‌آمیزی، اسپرم‌هایی که به طور کلی یا جزئی رنگ قرمز مایل به بنفش به خود گرفته بودند را مرده و اسپرم‌هایی که رنگ نگرفته بودند، اسپرم‌های زنده در نظر گرفته شد (۲۳).

ارزیابی یک پارچگی غشای پلاسمایی اسپرم: از تست هایپواسموتیک (HOST) حاوی ۹ گرم فروکتوز، ۴/۹ گرم سیترات سدیم، ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر با اسمولاریته ۱۰۰ میلی‌اسمول است، به منظور بررسی یک پارچگی غشای پلاسمایی اسپرم استفاده شد. اسپرم‌های با دم گره خورده به عنوان اسپرم‌های دارای غشا یک پارچه و اسپرم‌های که دم آن‌ها صاف است به عنوان اسپرم داری غشا غیر یک پارچه تلقی شدند (۲۴). برای این منظور ۱۰ میکرولیتر اسپرم رقیق شده را با ۲۰۰ میکرولیتر محلول HOST مخلوط شد (۲۵). وضعیت اسپرم‌ها توسط میکروسکوپ (Olympus, Japan) با عدسی ۴۰× مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی: برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید، مقدار یک میلی لیتر از منی رقیق شده با یک میلی لیتر کلرید سدیم ۰/۹ درصد مخلوط شده و سپس نمونه‌ها با دور ۳۵۰۰ در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و به تعداد سه بار با بافر سیترات شست‌وشو و مجدداً سانتریفیوژ شدند. در نهایت محلول رویی دور ریخته شده و رسوب باقیمانده اسپرم‌ها در یک میلی لیتر آب دیونیزه حل شده و تا زمان انجام تست، نمونه‌ها در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدئید مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از هر نمونه را برداشته و با یک میلی لیتر محلول اسید تری کلرواستیک ۲۰ درصد و تیوباریتوریک اسید ۰/۵ درصد مخلوط شده و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس نمونه‌ها بعد از سرد شدن در داخل یخ، به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در پایان عدد جذب مالون‌دی‌آلدئید محلول بالای توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۸۶ نانومتر، خوانده شده و غلظت مالون‌دی‌آلدئید ثبت شد (۲۶).

اندازه‌گیری ظرفیت کل آنتی اکسیدانتی، سوپراکسید دیسموتاز و فعالیت گلوکوتائون پراکسیداز: فراسنجه‌های ظرفیت کل آنتی اکسیدانتی و سوپراکسید دیسموتاز در پلاسمای منی توسط کیت‌های تجاری شرکت طب پژوهان (ایران-

تهران) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد، ضرایب تغییرات سنجش داخل و بین اندازه‌گیری‌ها به ترتیب ۵/۷، ۳/۷ درصد برای ظرفیت کل آنتی اکسیدانتی ۸/۰، ۷/۱ درصد برای سنجش سوپراکسید دیسموتاز بود. سنجش فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز توسط کیت تجاری زلبیو (Zellbio GmbH, Germany) انجام شد و مقادیر ضرایب تغییرات سنجش داخل و بین اندازه‌گیری‌ها به ترتیب ۳/۵، ۴/۷ بود. کلیه خوانش‌ها با دستگاه اتوآنالایزر (آلسیون ۳۰۰) و در آزمایشگاه مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شد.

آنالیز آماری

داده‌های جمع‌آوری شده، با استفاده از نرم افزار SAS، در قالب طرح کاملاً تصادفی با رویه GLM و براساس طرح آماری زیر با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال ۰/۰۵ تحت تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

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

که در این مدل، Y_{ij} = مقدار عمل کرد صفت وابسته‌ی نمونه‌ی j ام در تیمار i ام، μ = میانگین کل تیمار، T_i = اثر تیمار و e_{ij} = اثرات باقیمانده، هستند.

نتایج

بررسی جدول ۲ نشان می‌دهد تحرک کل و پیش‌رونده در گروه‌های دریافت کننده سلنیوم از منابع آلی و معدنی از سایر گروه‌های آزمایشی بالاتر بوده است ($p < 0.05$) در حالی که بین دو گروه مذکور تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. تحرک کل و تحرک پیش‌رونده در تیمار دگزامتازون در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافته و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داده است ($p < 0.05$). همچنین جدول مذکور نشان می‌دهد سرعت حرکت در گروه دریافت کننده دگزامتازون بطور معنی‌داری از سایر گروه‌های آزمایشی پایین‌تر می‌باشد ($p < 0.05$) اما بین سایر گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و این در حالی است که سرعت در مسیر منحنی در گروه سلنیوم آلی از سایرین بیش‌تر می‌باشد ($p < 0.05$). سایر پارامترهای حرکتی اسپرم از قبیل، میانگین سرعت در مسیر، سرعت در مسیر مستقیم، سرعت در مسیر منحنی، خطی بودن تحرک، درصد حرکت اسپرم‌ها در خط مستقیم، تحرک عرضی سر، فرکانس حرکات جانبی نیز روندی مشابه با تحرک کل و تحرک پیش‌رونده داشته و در تیمار سلنیوم آلی بالاتر بوده و اختلاف معنی‌داری با تیمارهای شاهد و دگزامتازون داشت ($p < 0.05$). لازم به‌ذکر است که تیمار سلنیوم آلی در مقایسه با سلنیوم معدنی، عمل کرد بهتری از خود نشان داد.

نتایج در جدول ۳ نشان می‌دهد که زنده‌مانی اسپرم تحت تاثیر منابع خوراکی سلنیوم قرار گرفته و نسبت به تیمارهای شاهد و نیز دگزامتازون بهبود یافته است ($p < 0.05$). همچنین با نگاهی به جدول ۳ مشاهده می‌شود که یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم در تیمار سلنیوم آلی اختلاف معنی‌داری با تیمارهای شاهد و دگزامتازون دارد ($p < 0.05$) اما با تیمار سلنیوم معدنی تفاوت معنی‌داری ندارد.

جدول ۲. ارزیابی اثرات خوراکی منابع سلنیوم آلی و معدنی بر فرآیندهای حرکتی اسپرم خروس چالش یافته با دگزامتازون.

تیمارهای آزمایشی^۱

خطای استاندارد	خطای معنی‌داری	Ise+Dex	Ose+Dex	DEX	CON ^۲	پارامترها
۰/۱۷۶	<۰/۰۰۰۱	۹۶/۸ ^a	۹۹/۵۶ ^a	۶۲/۳ ^c	۷۹/۴ ^b	تحرک کل اسپرم (/.)
۱/۰۹	<۰/۰۰۰۱	۵۳/۶ ^a	۵۹/۰۶ ^a	۲۷/۰۳ ^c	۴۲/۵۳ ^b	تحرک پیش‌رونده اسپرم (/.)
۱/۴۶	۰/۰۰۲۲	۳۸/۱ ^a	۴۹/۱۳ ^a	۱۷/۹۶ ^b	۴۰/۰۴ ^a	میانگین سرعت در مسیر (میکرومتر بر ثانیه)
۱/۴۸	۰/۰۱۱۲	۳۰/۵ ^a	۳۸/۸۶ ^a	۱۵/۳۴ ^b	۳۴/۸ ^a	سرعت در مسیر مستقیم (میکرومتر بر ثانیه)
۱/۷۱	۰/۰۰۰۱	۷۸/۱۷ ^b	۱۰۵/۳۱ ^a	۴۰/۴۹ ^c	۷۴/۰۹ ^b	سرعت در مسیر منحنی (میکرومتر بر ثانیه)
۱/۴۲	۰/۳۹۱۳	۳۸/۸۹	۳۶/۴	۳۰/۸۱	۳۸/۶۹	خطی بودن تحرک (/.)
۱/۶	۰/۲۶۳۱	۷۷/۸	۷۶/۳۹	۶۵/۹۱	۷۷/۱۴	درصد مستقیم الخط بودن حرکت اسپرم- ها (/.)
۰/۳	<۰/۰۰۰۱	۲/۶۹ ^b	۳/۵۹ ^a	۱/۰۳ ^d	۲/۰۱ ^c	تحرک عرضی (سر میکرومتر)
۰/۵۲	۰/۰۰۱۸	۱۲/۳۷ ^b	۱۱/۱۹ ^b	۱۵/۱۳ ^a	۱۳/۸۹ ^a	فرکانس حرکات جانبی (هرتز)

^۱ تیمارها با حروف متفاوت از نظر آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار دارند.

^۲ CON: گروه شاهد (مصرف کننده جیره پایه بدون مکمل سلنیوم و یا تجویز دگزامتازون)، DEX: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با تجویز دگزامتازون، Ose+Dex: گروه دریافت کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلنیوم آلی و Ise+Dex: گروه دریافت کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلنیوم معدنی.

بررسی جدول ۴ حاکی از آن است که گروه دگزامتازون بیشترین سطح مالون دی آلدئید را به خود اختصاص داده است ($p < 0.05$)؛ در عین حال، با توجه به جدول مذکور مشخص است که بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در گروه سلنیوم آلی مشاهده می‌شود که تفاوت معنی‌داری با سایر گروه‌های آزمایشی دارد ($p < 0.05$)، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در گروه‌های سلنیوم معدنی و شاهد نیز نسبت به گروه دگزامتازون تفاوت معنی‌داری دارند ($p < 0.05$) ولی بین دو گروه مذکور تفاوت آماری دیده نشد. همچنین جدول ۴ نشان می‌دهد سطوح گلوکوتاتیون پروکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گروه سلنیوم آلی بطور معنی‌داری بیشتر می‌باشد ($p < 0.05$) و این در حالی است که کمترین مقدار فراسنجه‌های مذکور در گروه دگزامتازون مشاهده شد ($p < 0.05$).

جدول ۳. ارزیابی اثرات خوراکی منابع سلنیوم آلی و معدنی بر یکپارچگی غشای پلاسمایی و زنده‌مانی اسپرم خروس چالش یافته با دگزامتازون.

تیمارهای آزمایشی^۱

خطای استاندارد	خطای معنی‌داری	Ise+Dex	Ose+Dex	DEX	CON ^۲	پارامترها
۰/۹۵	۰/۰۰۰۳	۸۵/۵۷ ^{ab}	۸۸/۹۷ ^a	۷۱/۹۳ ^c	۸۰/۷۸ ^b	یکپارچگی غشای پلاسمایی
۱/۱۵	۰/۰۰۷۰	۸۶/۶۸ ^a	۸۷/۷۵ ^a	۷۳/۵۷ ^b	۷۸/۳۳ ^b	زنده‌مانی اسپرم

^۱ تیمارها با حروف متفاوت از نظر آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار دارند.

^۲ CON: گروه شاهد (مصرف کننده جیره پایه بدون مکمل سلنیوم و یا تجویز دگزامتازون)، DEX: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با تجویز دگزامتازون، Ose+Dex: گروه دریافت کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلنیوم آلی و Ise+Dex: گروه دریافت کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلنیوم معدنی.

جدول ۴. ارزیابی اثرات خوراکی منابع سلنیوم آلی و معدنی بر فراسنجه‌های شیمیایی اسپرم خروس چالش یافته با دگزامتازون. تیمارهای آزمایشی ۱ فراسنجه‌ها

خطای استاندارد	سطح معنی داری	Ise+Dex	Ose+Dex	DEX	CON ^۲	فراسنجه‌ها
۰/۰۲۹۵	۰/۴۱	۴/۲۶ ^b	۴/۰۷ ^b	۵/۴۰ ^a	۳/۸۸ ^b	مالون دی آلدهید (nmol/ml)
۰/۰۰۱۰	۰/۱۷	۱/۳۷ ^b	۱/۵۵ ^a	۱/۰۵ ^c	۱/۲۶ ^b	ظرفیت کل آنتی اکسیداتی (U/ml)
۰/۰۰۱۲	۱/۴۳	۶۳/۲۸ ^{bc}	۸۵/۹۱ ^a	۵۲/۵۱ ^c	۶۵/۲۷ ^b	گلوکوتائون پراکسیداز (U/ml)
۰/۰۰۰۶	۱/۴۵	۱۲۲/۵۴ ^b	۱۴۶/۵۰ ^a	۱۰۸/۶۲ ^c	۱۲۱/۷۸ ^b	سوپر اکسید دیسموتاز (U/ml)

۱ تیمارها با حروف متفاوت از نظر آماری در سطح احتمال ۰/۰۵ تفاوت معنی دار دارند.

CON^۲: گروه شاهد (مصرف کننده جیره پایه بدون مکمل سلنیوم و یا تجویز دگزامتازون)، DEX: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با تجویز دگزامتازون، Ose+Dex: گروه دریافت کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلنیوم آلی و Ise+Dex: گروه دریافت کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلنیوم معدنی.

بحث

استرس باعث کاهش کیفیت اسپرم تولیدی در پرندگان می‌شود و تزریق دگزامتازون نیز می‌تواند اثرات مشابهی با استرس در بر داشته باشد (۱۹). در این ارتباط تزریق دگزامتازون می‌تواند سبب کاهش تعداد اسپرم و اسپرم‌های متحرک شده و افزایش اسپرم‌های مرده را به دنبال داشته باشد (۱۷). شماری از مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از دگزامتازون مقدار زیادی از مشتقات اکسیژن واکنش پذیر تولید می‌کند که باعث تحریک استرس فیزیولوژیک در جوجه‌های گوشتی (۱) و مرغ‌های تخم‌گذار (۲۷) می‌شود. گلوکوکورتیکوئید سنتتیک (دگزامتازون) اثرات زیادی مانند افزایش دمای بدن، میزان تنفس و کاهش نرخ رشد را در جوجه‌های گوشتی سبب می‌شود (۲۸). مصرف سلنیوم در اشکال آلی و معدنی سلنیوم در خوراک به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی آن می‌تواند باعث بهبود تحرک پیش‌رونده به‌عنوان یکی از دلایل مستقیم باروری، گردد، تا حدی که می‌تواند تاثیرات منفی تزریق دگزامتازون را بهبود بخشد (۲۹). یک اثر شناخته شده ناشی از کمبود سلنیوم، عدم عمل‌کرد بهینه قطعه میانی اسپرم بوده که منجر به نقص در تحرک اسپرم می‌شود (۳۰). طی آزمایشی بر روی اثر شکل‌های آلی و معدنی سلنیوم بر کیفیت اسپرم بوقلمون، نشان داده شد بوقلمون‌هایی که با سلنیوم آلی مکمل‌سازی شده بودند در مقایسه با سلنیوم معدنی دارای تحرک بالاتر اسپرم‌ها بودند (۳۱). در مطالعه‌ای دیگر، در خوک‌های تغذیه شده با رژیم غذایی دارای کمبود سلنیوم، نشان داده شد که اسپرماتوزوآ غلظت آدنوزین تری فسفات (ATP) کم‌تری داشته و هم‌چنین ناهنجاری‌های ساختاری قطعه میانی در آن‌ها مشاهده شد و نیز متعاقباً تحرک پیش‌رونده اسپرم نیز کاهش یافت (۳۲، ۳۳). البته مطالعاتی بطور مثال در بوقلمون وجود دارند که در آن تاثیر از رژیم غذایی حاوی مکمل سلنیوم آلی بر تحرک اسپرم‌ها بوقلمون نر مشاهده نشد (۳۴). در آزمایش حاضر با ایجاد استرس اکسیداتیو در خروس‌های دریافت‌کننده دگزامتازون تحرک کل اسپرم نسبت به تیمار شاهد شدیداً کاهش یافت، اما افزودن منابع سلنیوم آلی و معدنی در خوراک خروس‌های دریافت‌کننده دگزامتازون، سبب بهبود تحرک کل اسپرم‌ها شد. محققان بیان داشته‌اند، استرس اکسیداتیو، می‌تواند اسپرماتوسیت‌های ثانویه را از طریق تنظیم برخی از عوامل کلیدی در طول اسپرماتوزون، تحت تاثیر قرار دهد (۳۵). در شرایط استرس اکسیداتیو مناسب است که مصرف آنتی اکسیدانت‌ها جهت مقابله با ترکیبات آزاد اکسیژنی افزایش یابد و در صورت فراهم‌سازی مکمل‌های آنتی اکسیدانتی، می‌توان اثرات منفی استرس اکسیداتیو را کاهش داده که در آزمایش حاضر نیز مشاهده شده است.

زیرا منبع خوراکی سلنیوم به‌خصوص شکل آلی، توانسته اثرات منفی دگزامتازون را تعدیل نماید. میانگین سرعت در مسیر، سرعت در مسیر مستقیم، سرعت در مسیر منحنی، خطی بودن تحرک، درصد حرکت اسپرم‌ها در خط مستقیم، تحرک عرضی سر، فرکانس حرکات جانبی مشابه با تحرک کل و تحرک پیش‌رونده در تیمار سلنیوم آلی بالاتر بوده و حتی در مقایسه با سلنیوم معدنی نیز عمل کرد بهتری از خود نشان داد. به‌طور کلی، این نتیجه حاصل شده است که پارامترهای حرکتی مذکور با تحرک اسپرم هم‌بستگی مثبت دارند (۳۶). در تحقیقی در ارتباط با تاثیر مصرف منابع آلی و معدنی سلنیوم در جیره، نشان داده شد کم‌ترین مقدار فرکانس حرکات جانبی (BCF) در اسپرم بوقلمون‌هایی مشاهده شد که در جیره آن‌ها سلنیوم معدنی استفاده شده بود و موید این مطلب بود که فرم معدنی سلنیوم باعث کاهش برخی از پارامترهای حرکت اسپرم می‌شود و بیان شده است احتمالاً مکمل سلنیوم آلی نسبت به مکمل سلنیوم معدنی موثرتر است (۳۱).

تزریق دگزامتازون و ایجاد استرس ناشی از آن زنده‌مانی اسپرم‌ها را کاهش می‌دهد (۱۷). مطالعات حاضر نشان می‌دهد که زنده‌مانی اسپرم تحت تاثیر منابع خوراکی سلنیوم قرار گرفته و نسبت به تیمارهای شاهد و نیز دگزامتازون بهبود یافته است. سلنیوم یکی از اجزای اصلی گلوکوتیون پراکسیداز (GPx) و سلنوپروتئین‌ها است (۳۷) که زنده‌مانی اسپرم را افزایش داده و هم‌چنین، محافظت در برابر گونه‌های اکسیژن فعال را بهبود می‌بخشد (۳۸). مشابه زنده‌مانی اسپرم‌ها، مصرف سلنیوم یک پارچگی غشای پلاسمایی اسپرم را بهبود می‌بخشد و بیان‌گر این می‌باشد که مکمل آلی و معدنی سلنیوم مورد استفاده در خوراک، به‌خوبی می‌تواند اثرات استرسی دگزامتازون را از بین برده و بر یک پارچگی غشای پلاسمایی تاثیر مثبت بگذارد.

از جمله فراسنجه‌هایی که تاثیر به‌سزایی در کیفیت اسپرم دارد، مالون‌دی‌آلدهید می‌باشد که هر چقدر میزان آن زیاد باشد ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل کاهش می‌یابد و توانایی اسپرم در باروری کم‌تر می‌شود. مالون‌دی‌آلدهید یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپید آلدهیدی واکنش‌پذیر و جهش‌زا در پلاسمای منی است (۳۹) و می‌تواند به‌عنوان یک ابزار تشخیصی ناباروری در نرها در نظر گرفته شود (۴۰). در مطالعه حاضر تیمار دگزامتازون بیش‌ترین مقدار مالون‌دی‌آلدهید را دارا بود و کم‌ترین مقدار مالون‌دی‌آلدهید نیز به‌ترتیب در تیمارهای شاهد، سلنیوم آلی و سلنیوم معدنی مشاهده شد و این امر بیان‌گر این می‌باشد که دگزامتازون پراکسیداسیون لیپید افزایش یافته و مالون‌دی‌آلدهید مورد سنجش نیز سیر صعودی به‌خود می‌گیرد و در تیمار کنترل با کم‌ترین مقدار مالون‌دی‌آلدهید نشان از پراکسیداسیون لیپیدی کم‌تر می‌باشد. در تیمارهای استفاده کننده از سلنیوم آلی و معدنی، مکمل‌سازی سلنیوم در خوراک توانسته است از پراکسیداسیون لیپیدی و تولید مالون‌دی‌آلدهید جلوگیری کنند. مالون‌دی‌آلدهید، محصول پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد که طی اثرگذاری عوامل اکسیدکننده بر لیپیدهای غشایی ایجاد می‌شود (۴۱). در این ارتباط، هم‌بستگی منفی بالایی بین مالون‌دی‌آلدهید و تحرک اسپرم در خوک‌ها نشان داده شده است (۴۲). افزایش سطح مالون‌دی‌آلدهید در مایع منی ذخیره شده خوک با از دست دادن سریع تحرک و یک پارچگی غشای پلاسمایی اسپرماتوزوآ همراه است (۴۳).

در اثر استرس سطح مالون‌دی‌آلدهید افزایش می‌یابد ولی بالعکس آن سطح آنتی‌اکسیدانتی کل کاهش پیدا می‌کند و به‌طور مشخص، تیمار دگزامتازون با ایجاد استرس دارای کم‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل بود. بیش‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی در بین تیمارها در تیمار سلنیوم آلی مشاهده شد ولی تیمار سلنیوم معدنی در مقایسه با تیمار سلنیوم آلی کم‌تر بود، به‌عبارتی دیگر مصرف سلنیوم معدنی نتوانست همانند مصرف سلنیوم آلی اثرات منفی تزریق دگزامتازون را جبران نماید. پلاسمای منی دارای سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که به‌عنوان مکانیسم دفاع در برابر ROS و پراکسیداسیون لیپید در مایع منی بسیاری از گونه‌های حیوانی عمل می‌کنند که نمونه‌ای از این مکانیسم‌ها گلوکوتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌باشند (۴۴-۴۶). فراسنجه‌های مذکور از آن جهت می‌توانند حائز اهمیت باشند که تیمار سلنیوم آلی به‌همراه

دگزامتازون دارای بیشترین مقدار گلوکوتاتیون پراکسیداز می‌باشد ولی تیمار سلنیوم معدنی نتوانسته انتظارات را در حد قابل قبول برآورده کند ولی با این حال از تیمار دگزامتازون بالاتر می‌باشد. در آزمایشی انجام شده بر روی خوک‌ها، نشان داده شده است که بیشترین فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز در تیمار سلنیوم آلی (سلپلکس) در مقایسه با تیمارهای سلنیوم معدنی - (سدیم سلنیت) و شاهد مشاهده شد. در این ارتباط محققین بیان کردند که گلوکوتاتیون پراکسیداز عمدتاً در کپسول میتوکندری اسپرم‌ها (قطعه میانی اسپرم‌ها) محلی که به‌عنوان دستگاه جنبشی اسپرم شناخته می‌شود قرار دارد، به‌عبارت‌دیگر، ارتباط مستقیمی بین گلوکوتاتیون پراکسیداز و تحرک اسپرم می‌تواند وجود داشته باشد، به‌گونه‌ای که پایین آمدن فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز را می‌توان به کاهش تحرک اسپرم‌ها نسبت داد (۳۵). هم‌چنین در تحقیقی دیگر، گزارش شده است که تغذیه سلنیوم آلی باعث افزایش، فسفولیپید هیدروپراکسید گلوکوتاتیون پراکسیداز در مایع منی خوک می‌شود (۴۷). اثرات سلنیوم جیره بر تکثیر سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونیا و شرایط آنتی اکسیدانتی در بیضه خروس‌ها نیز مورد مطالعه قرار گرفته است و مشاهده شده که غلظت سلنیوم در خون و بیضه و متعاقباً فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز نیز افزایش می‌یابد (۴۸). در مطالعه حاضر با بررسی سوپراکسید دیسموتاز، مشاهده می‌شود که پارامتر مذکور نیز روندی مشابه با گلوکوتاتیون پراکسیداز داشته و تیمار سلنیوم آلی بیشترین مقدار را دارا می‌باشد. کمترین مقدار سوپراکسید دیسموتاز مربوط به تیمار دگزامتازون است که موافق با نتایج سایر محققین است که نشان دادند، استرس اکسیداتیو ایجاد شده با تزریق دگزامتازون سبب کاهش تولید سوپراکسید دیسموتاز از طریق کاهش بیان mRNA می‌شود (۱۹). نشان داده شده است که سوپراکسید دیسموتاز مهم‌ترین آنتی اکسیدانت موجود در مایع منی و رادیکال‌های سوپراکسید است که از اکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی جلوگیری می‌کند. با این حال، سوپراکسید دیسموتاز همراه با گلوکوتاتیون پراکسیداز به‌عنوان مهارکننده ROS عمل می‌کند (۴۹).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاصل نشان داد که استفاده از مکمل خوراکی سلنیوم می‌تواند اثرات مثبت بر کیفیت اسپرم خروس‌ها تحت شرایط استرس داشته باشد و در این میان مکمل آلی و معدنی سلنیوم در فراسنجه‌های حرکتی، تفاوت معنی‌داری ندارند ولی از نظر ظرفیت کل آنتی اکسیدانتی و گلوکوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز شکل آلی، نتایج بهتری به‌همراه داشت.

منابع

1. Gao J, Lin H, Wang XJ, Song ZG, et al. Vitamin E supplementation alleviates the oxidative stress induced by dexamethasone treatment and improves meat quality in broiler chickens. *Poult Sci.* 2010; 89(2): 318-327.
2. Chung S, Son GH, Kim K. Adrenal peripheral oscillator in generating the circadian glucocorticoid rhythm. *Ann N Y Acad Sci.* 2011. 1220: 71-81.
3. LaLone CA, Villeneuve DL, Olmstead AW, Medlock EK, et al. Effects of a glucocorticoid receptor agonist, dexamethasone, on fathead minnow reproduction, growth, and development. *Environ Toxicol Chem.* 2012; 31(3): 611-622.
4. Lu X, Zhang E, Yin S, Fan L, et al. Methylseleninic acid prevents patulin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity via the inhibition of oxidative stress and inactivation of p53 and MAPKs. *J Agric Food Chem.* 2017; 65(26): 5299-5305.

5. Ju W, Li X, Li Z, Wu G, et al. The effect of selenium supplementation on coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Trace Elem Med Biol.* 2017; 44: 8-16.
6. Behne D, Höfer T, Von Berswordt-Wallrabe R, Elger W. Selenium in the testis of the rat: studies on its regulation and its importance for the organism. *J Nutr.* 1982; 112: 1682-1687.
7. Shamberger RJ. Biological interactions of selenium with other substances. in *Biochemistry of Selenium.* 1983; 2: 125-166.
8. Pascual A, Aranda A. Thyroid hormone receptors, cell growth and differentiation. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2013; 1830(7): 3908-3916.
9. Arthur J. The glutathione peroxidases. *Cell Mol Life Sci.* 2001; 57(13-14): 1825-1835.
10. Radostits OM, Gay C, Hinchcliff KW, Constable PD. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. *Vet Med.* 2007; 10: 2045-2050.
11. Bareither ML, Verhage HG. Control of the secretory cell cycle in cat oviduct by estradiol and progesterone. *Am J Anat.* 1981; 162(2): 107-118.
12. Flohé L. The selenoprotein glutathione peroxidase. *Glutathione: Chemical, Biochemical and Medical Aspects.* 1989; 644-731.
13. Galadari S, Rahman A, Pallichankandy S, Thayyullathil F, et al. Reactive oxygen species and cancer paradox: to promote or to suppress? *Free Radic Biol Med.* 2017; 104: 144-164.
14. Scott M, Thompson J. Selenium content of feedstuffs and effects of dietary selenium levels upon tissue selenium in chicks and poults. *Poult Sci.* 1971; 50(6): 1742-1748.
15. Schwarz K, Foltz CM. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J Am Chem Soc.* 1957; 79(12): 3292-3293.
16. Edens F, Sefton A. Sell-Plex[®] Improves Spermatozoa Morphology in Broiler Breeder Males. *Int J Poult Sci.* 2009; 8(9): 853-861.
17. Eid Y, Ebeid T, Moawad M, El-Habbak M. Reduction of dexamethasone-induced oxidative stress and lipid peroxidation in laying hens by dietary vitamin E supplementation. *Emir J Food Agric.* 2008; 20(2): 8-40.
18. Costantini D, Marasco V, Møller AP. A meta-analysis of glucocorticoids as modulators of oxidative stress in vertebrates. *J Comp Physiol B.* 2011; 181(4): 447-456.
19. Min Y, Niu Z, Sun T, Wang Z, et al. Vitamin E and vitamin C supplementation improves antioxidant status and immune function in oxidative-stressed breeder roosters by up-regulating expression of GSH-Px gene. *Poult sci.* 2018; 97(4): 1238-1244.
20. Burrows W, Quinn J. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poult Sci.* 1937; 16(1): 19-24.
21. da Silva Maia M, Bicudo SD, Azevedo HC, Sicherle CC, et al. Motility and viability of ram sperm cryopreserved in a Tris-egg yolk extender supplemented with anti-oxidants. *Small Rum Res.* 2009; 85(2/3): 85-90.
22. Safa S, Moghaddam G, Jozani RJ, Kia HD, et al. Effect of vitamin E and selenium nanoparticles on post-thaw variables and oxidative status of rooster semen. *Ani rep sci.* 2016; 174: 100-106.
23. Askari M, Khodaei Motlagh M, Kazemi Bonchenari M, Vahedi V. Antioxidant effect of carob seed extract (*Ceratonia siliqua* L) on quality parameters Farahani ram sperm after freeze-thawing. *J Cel Tis.* 2020; 11(1): 1-12.

24. Revell S, Mrode R. An osmotic resistance test for bovine semen. *Ani Rep Sci.* 1994; 36(1): 77-86.
25. Najafi A, Taheri RA, Mehdipour M, Martínez-Pastor F, et al. Improvement of post-thawed sperm quality in broiler breeder roosters by ellagic acid-loaded liposomes. *Poult Sci.* 2019; 98(10): 440-446.
26. Peris SI, JF Bilodeau, Dufour M, Bailey JL. Impact of cryopreservation and reactive oxygen species on DNA integrity, lipid peroxidation, and functional parameters in ram sperm. *Mol rep dev.* 2007; 74: 878-892.
27. El-Habbak M, Abou-EL-Soud S, Ebeid T. Effect of induced stress by dexamethasone administration on performance, egg quality and some blood parameters of laying hens. *Egypt Poult Sci.* 2005; 25: 89-105.
28. Aengwanich W. Effects of dexamethasone on physiological changes and productive performance in broilers. *Asian J Anim Vet Adv.* 2007; 2(3): 157-161.
29. Mohammadi S, Movahedin M, Mowla SJ. Up-regulation of CatSper genes family by selenium. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009; 7(126): 1-6.
30. Hansen J, Deguchi Y. Selenium and fertility in animals and man--a review. *Acta Vet Scand.* 1996; 37(1): 19-30.
31. Słowińska M, Jankowski J, Dietrich G, Karol H, et al. Effect of organic and inorganic forms of selenium in diets on turkey semen quality. *Poult Sci.* 2011; 90(1): 181-190.
32. Marin-Guzman J, Mahan D, Pate JL. Effect of dietary selenium and vitamin E on spermatogenic development in boars. *J Anim Sci.* 2000; 78(6): 1537-1543.
33. Marin-Guzman J, Mahan D, Whitmoyer R. Effect of dietary selenium and vitamin E on the ultrastructure and ATP concentration of boar spermatozoa, and the efficacy of added sodium selenite in extended semen on sperm motility. *J Ani Sci.* 2000; 78: 1544-1550.
34. Dimitrov S, Atanasov V, Surai P, Denev S. Effect of organic selenium on turkey semen quality during liquid storage. *Anim Reprod Sci.* 2007; 100(3-4): 311-317.
35. Petrujkić B, Šefer D, Jovanović I, Jovičin M, et al. Effects of commercial selenium products on glutathione peroxidase activity and semen quality in stud boars. *Anim Feed Sci Technol.* 2014; 197: 194-205.
36. King LM, Holsberger DR, Donnoghue AM. Correlation of CASA velocity and linearity parameters with sperm mobility phenotype in turkeys. *J Androl.* 2000; 21(1): 65-71.
37. Allmang C. A Krol. Selenoprotein synthesis: UGA does not end the story. *Biochimie.* 2006; 88(11): 1561-1571.
38. Ahsan U, Kamran Z, Raza I, Ahmad S, et al. Role of selenium in male reproduction-A review. *Anim Reprod Sci.* 2014; 146(1-2): 55-62.
39. Tavilani H, Goodarzi MT, Vaisi-Raygani A, Salimi S, et al. Activity of antioxidant enzymes in seminal plasma and their relationship with lipid peroxidation of spermatozoa. *Int Braz J Urol.* 2008; 34(4): 485-491.
40. Bhutia RD, Upadhyay B, Maneesh M. Association of plasma level of thiobarbituric acid reactive substances with extent of hepatocellular injury in preterm infants with cholestatic jaundice. *Indian J Clin Biochem.* 2006; 21(2): 39-41.

41. Shang X-J, Li K, Ye Z-Q, Chen Y-G, et al. Analysis of lipid peroxidative levels in seminal plasma of infertile men by high-performance liquid chromatography. *Arch Androl.* 2004; 50(6): 411-416.
42. Breininger E, Beorlegui NB, Flaherty CMO, Beconi MT. Alpha-tocopherol improves biochemical and dynamic parameters in cryopreserved boar semen. *Theriogenology.* 2005; 63(8): 2126-2135.
43. Kumaresan A, Kadirvel G, Bujarbaruah K, Bardoloi R, et al. Preservation of boar semen at 18 C induces lipid peroxidation and apoptosis like changes in spermatozoa. *Anim Rep Sci.* 2009; 110(1-2): 162-171.
44. Bréque C, Surai P, Brillard JP. Roles of antioxidants on prolonged storage of avian spermatozoa in vivo and in vitro. *Mol Rep Dev.* 2003; 66(3): 314-323.
45. Cerolini S, Zaniboni L, Maldjian A, Gliozzi T. Effect of docosahexaenoic acid and α -tocopherol enrichment in chicken sperm on semen quality, sperm lipid composition and susceptibility to peroxidation. *Theriogenology.* 2006; 66(4): 877-886.
46. Partyka A, Łukaszewicz E, Nizański W. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in avian semen. *Anim Reprod Sci.* 2012; 134(3-4): 184-190.
47. Martins SMMK, A De Andrade, F G Zaffalon, L J Parazzi, et al. Organic selenium increases PHGPx, but does not affect quality sperm in raw boar semen. *Livest Sci.* 2014; 164: 175-178.
48. Shi L, Zhao H, Ren Y, Yao X, et al. Effects of different levels of dietary selenium on the proliferation of spermatogonial stem cells and antioxidant status in testis of roosters. *Anim Reprod Sci.* 2014; 149(3-4): 266-272.
49. Agarwal A, Prabakaran SA. Mechanism, measurement, and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology. *Indian J Exp Biol.* 2005. 43(11): 963-974.

Evaluation of antioxidant properties of selenium nutritional sources on sperm quality of birds challenged with acute stress

Kamrani S, M.Sc., Karimi A^{*}, Ph.D., Sheikhlou MR, Ph.D

- Department of Animal Science, faculty of Ahar Agriculture & Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran

* Email corresponding author: pekarimi@tabrizu.ac.ir

Received: 6 Feb. 2021

Accepted: 3 May.2021

Abstract

Aim: This experiment was carried out to evaluate the effect of different sources of selenium in daily feed intake (intrinsic effect) on roosters' semen under oxidative stress in 28 week-old Ross broiler breeder roosters.

Material and Methods: A total of 24 birds were divided into 4 experimental groups and 6 birds per replicate in a completely randomized design. Experimental groups included: 1) control group (Con) without any treatment, 2) as control group but birds were administrated with Dexamethasone (Dex), 3) as group 2 + birds consumed selenomethionine as organic selenium (0.3 mg Se/kg of feed intake) (OSe+Dex) and 4) similar to group 3 but birds consumed Sodium Selenite as the inorganic source instead of an organic one. Oxidative stress stimulation was induced by injecting dexamethasone (0.4 mg/kg BW) 3 times every other day for 1 week.

Results: Consumption of selenium sources, especially organic form, resulted in higher total and progressive sperm motility, sperm viability, and membrane integrity (99.56, 59.06, 87.75, and 88.97%, respectively), versus Con (79.4, 42.53, 78.33 and 80.78%, respectively) and Dex (62.2, 27.03, 73.57 and 71.92%, respectively) ($P<0.05$). Also, the profile of biochemical parameters such as Total Antioxidant Capacity (TAC), Glutathione Peroxidase (GPX), and Super Oxide Dismutase (SOD) in the groups OSe+Dex (146.5, 85.91 and 1.55 U/ml, respectively) and ISe+Dex (122.54, 63.28 and 1.37 U/ml, respectively) were better than Con (121.78, 65.27 and 1.26 U/ml, respectively) and Dex groups (108.62, 52.51 and 1.05 U/ml, respectively) ($P<0.05$).

Conclusion: Overall, it seems an organic form of selenium resulted in better semen properties than inorganic form.

Keywords: Rooster semen, Organic Selenium, Inorganic Selenium, Oxidative Stress.