



"مقاله پژوهشی"

اثر مکمل سازی جیره با منابع آلی و معدنی سلنیوم بر کیفیت منی منجمد  
یخ گشایی شده در خروس‌های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو با دگزامتازون

نامدار کامرانی<sup>۱</sup>، امیر کریمی<sup>۲</sup>، ذبیح‌اله نعمتی<sup>۳</sup> و مقصود بشارتی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، فیزیولوژی دام، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز  
۲- هیئت علمی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، (نویسنده مسوول: pekarimi@tabrizu.ac.ir)  
۳- دانشیار، گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۴

صفحه: ۱ تا ۱۰

چکیده

مطالعه حاضر به منظور مقایسه منابع آلی و معدنی سلنیوم در خوراک بر کیفیت اسپرم‌های منجمد یخ گشایی شده خروس‌های گله مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو انجام شد. در این تحقیق، ۲۴ قطعه خروس سویه راس ۳۰۸ با سن ۲۸ هفتگی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۶ پرنده در هر تیمار نگهداری شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: (۱) گروه شاهد: جیره پایه بدون مکمل‌سازی با منابع سلنیوم و یا تزریق دگزامتازون (CON)، (۲) گروه DEX: جیره پایه همراه با تزریق دگزامتازون (به مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن طی ۳ مرحله و به صورت یک روز در میان) (۳) گروه DEX<sub>(Ose)</sub>: گروه دریافت‌کننده دگزامتازون همانند گروه ۲، همراه با جیره مکمل‌سازی شده با ۳/۰ میلی‌گرم سلنیوم بر کیلوگرم خوراک از سلنومیتوین به عنوان منبع سلنیوم آلی و ۴) گروه DEX<sub>(ISe)</sub>: مانند گروه ۳، اما جیره با ۳/۰ میلی‌گرم سلنیوم بر کیلوگرم خوراک از سلنیت سدیم به عنوان منبع سلنیوم معدنی مکمل‌سازی شد. پس از اسپرم‌گیری فرآیند انجماد اسپرم با کمک رقیق‌کننده بتلسویل مدیفای شده انجام گرفت. پس از یخ‌گشایی اسپرم‌ها، فرآیندهای حرکتی با کمک سیستم آنالیز کامپیوتری انجام شد. نتایج نشان داد که مکمل‌سازی جیره با سلنیوم آلی در پرندگان تحت تنش با دگزامتازون (DEX<sub>(Ose)</sub>)، سبب بهبود تحرک کل و تحرک پیش‌رونده اسپرم نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی شد ( $p < 0.05$ ) اگرچه DEX<sub>(Ose)</sub> تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد در حرکت پیش‌رونده اسپرم، نداشت ( $p > 0.05$ ). همچنین مصرف سلنیوم معدنی (DEX<sub>(ISe)</sub>) تاثیر معنی‌داری بر بهبود تحرک کل و تحرک پیش‌رونده اسپرم، نسبت به گروه DEX نداشت ( $p > 0.05$ ). از طرف دیگر، نه تنها زنده‌مانی و یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم، بلکه پارامترهای بیوشیمیایی (گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) نیز در گروه DEX<sub>(Ose)</sub> نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی بالاتر بود ( $p < 0.05$ ). به طور کلی به نظر می‌رسد، مکمل‌سازی جیره خروس‌های مادر با سلنیوم آلی که تحت شرایط تنش با تزریق دگزامتازون قرار گرفته باشند، می‌تواند موجب بهبود کیفیت اسپرم نسبت به سلنیوم معدنی شود.

واژه‌های کلیدی: اسپرم یخ‌گشایی شده، تنش اکسیداتیو، سلنیوم آلی، سلنیوم معدنی

مقدمه

عملکرد اسپرم است (۵). در شرایط فیزیولوژیکی، گونه‌های فعال اکسیژن برای عملکرد اسپرم مهم است (۲۶). در مقادیر اندک، آنها برای لقاح واکنش آکروزومی، تحرک و ظرفیت پذیری، لازم هستند (۱). با این حال، در شرایط پاتولوژیک، سطح بیش از حد ROS ممکن است بر کیفیت آنها تاثیر منفی بگذارد (۲۶). اسپرم‌ها به عنوان سلول‌هایی که در شرایط هواری زندگی می‌کنند، با یک تناقض اکسیژن روبرو هستند: O<sub>2</sub> برای آنها بسیار مهم است، اما متابولیت‌های آن مانند ROS می‌توانند عملکرد اسپرم را تغییر داده و بقای آنها را به خطر بیندازند (۱۱). ROS با دو مکانیسم اصلی باعث ناباروری می‌شود. این مواد با آسیب بر غشای اسپرم، نه تنها موجب کاهش تحرک اسپرم و توانایی لقاح آنها با تخمک‌ها می‌شوند، بلکه می‌توانند به DNA اسپرم آسیب رسانده و منجر به انتقال DNA معیوب پدری به جنین شوند (۱۱). محافظت آنتی‌اکسیدانی نقش اساسی در حفظ یکپارچگی غشای اسپرم و توانایی لقاح آنها دارد (۴۴). سلنیوم درگیر در دفاع آنتی‌اکسیدانی ارگانسیم، به طور قابل توجهی کیفیت انزال در جنس نر را تعدیل می‌کند (۴۵). سلنیوم را می‌توان در بدن به عنوان بخشی از حداقل ۲۵ سلنوپروتئین مشاهده کرد

مناسب ترین ابزار جهت به دست آوردن بازده ژنتیکی بالا و کاهش بیماری‌های تولید مثلی، تلقیح مصنوعی است که تحت تاثیر فاکتورهای متعددی قرار دارد، یکی از فاکتورهای اصلی و مهم در تلقیح مصنوعی موفق، داشتن اسپرم‌های بارور می‌باشد که از طریق فرآیند انجماد موفق به دست می‌آیند (۴۹). شواهد قابل توجهی وجود دارد که فریز کردن، باعث افزایش آسیب DNA، آناپلوئیدی (تخریب کروموزومی) و خرد شدن کروموزوم می‌شود (۲۹،۶). غشای پلاسمایی اسپرم به دلیل وجود غلظت بالای اسیدهای چرب غیر اشباع (PUFAs) به پراکسیداسیون لیپید بسیار مستعد است (۱۶،۱۰،۷). این اسیدهای چرب غیراشباع، سطح بالایی از سیالیت و خاصیت ارتجاعی لازم برای تحرک اسپرم و لقاح آن‌ها با تخمک را به غشا می‌دهند. پراکسیداسیون لیپید می‌تواند منجر به از بین رفتن سیالیت و یک پارچگی غشاها و در نتیجه کاهش توانایی لقاح اسپرم-تخمک شود (۱۶). استرس اکسیداتیو، عامل مهمی است که با پراکسیداسیون لیپیدها بر پتانسیل باروری اسپرماتوزوآها تاثیر منفی می‌گذارد (۵). تعداد اسپرم و تحرک آن‌ها شاخص‌های اساسی توانایی

دسترس‌ی آزاد به آب داشتند. خروس‌ها با جیره پایه یکسان، تغذیه شدند (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱) گروه شاهد: مصرف‌کننده جیره پایه بدون مکمل‌سازی با منابع سلیوم و یا تزریق دگزامتازون (CON، 2)، گروه DEX: مصرف‌کننده جیره پایه همراه با تزریق دگزامتازون (به‌مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن طی ۳ مرحله و به‌صورت یک روز در میان) (۳) گروه DEX<sub>(OSe)</sub>: گروه دریافت‌کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره مکمل‌سازی شده با سلنوم‌تیونین به‌عنوان منبع سلیوم آلی به‌مقدار ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک و (۴) گروه DEX<sub>(ISe)</sub>: گروه دریافت‌کننده دگزامتازون همراه با جیره مکمل‌سازی شده با ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک سلنیت سدیم به‌عنوان منبع سلیوم معدنی.

### تزریق دگزامتازون و اسپرم‌گیری

در آزمایش حاضر، القاء تنش اکسیداتیو، از طریق تزریق دگزامتازون که از شرکت دارویی ابوریحان (ابوریحان-ایران) تهیه شده بود، به‌مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن طی ۳ مرحله و به‌صورت یک روز در میان، انجام شد (۳۱). پس از دو هفته عادت‌پذیری، اسپرم‌گیری از ۲۴ قطعه خروس به‌مدت ۲ هفته و هفته‌ای ۲ بار به‌روش مالش پشتی-شکمی، انجام گرفت (۸). نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار داده شدند تا ارزیابی اولیه از نظر تحرک، غلظت و رنگ اسپرم انجام شود. اسپرم‌های با تحرک ۷۵٪ و غلظت مناسب به‌عنوان اسپرم‌های طبیعی در نظر گرفته شده و برای مراحل بعدی آزمایش، جهت از بین بردن اثرات فردی، نمونه‌ها با هم مخلوط شدند. محیط رقیق‌کننده مورد استفاده در این آزمایش، رقیق‌کننده بلتسویل بهبود یافته بود (۳۲) که تمامی ترکیبات آن از شرکت مرک (مرک، آلمان) تهیه شده بود (جدول ۲).

### انجماد و یخ‌گشایی اسپرم

نمونه‌های منی که به‌منظور حذف اثرات فردی مخلوط شده بودند، به نسبت ۱ به ۲۰ به محیط رقیق‌کننده افزوده و درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، انتقال داده شدند. پس از ۲ ساعت و رسیدن دمای نمونه‌ها به ۴ درجه سانتی‌گراد، اسپرم‌ها به‌صورت دستی داخل پایوت‌ها کشیده و با خمیر هماتوکریت مهر و موم شدند. پایوت‌های دارای اسپرم، در ارتفاع ۴ سانتی‌متر بالای بخار ازت به‌مدت ۷ دقیقه قرار داده شدند و سپس برای ذخیره‌سازی به داخل تانک ازت (۱۹۶- درجه سانتی‌گراد) انتقال داده شدند تا پروسه انجماد اسپرم‌ها تکمیل شود (۳). برای بررسی فرآیندهای کیفی اسپرم تیمارهای مختلف آزمایشی، پایوت‌های حاوی اسپرم منجمد، از ازت مایع خارج شدند و پس از قراردادن در حمام آب گرم دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه، یخ‌گشایی شده و به‌داخل میکروتیوپ تخلیه شدند تا ارزیابی‌های مورد نظر انجام شود (۳).

(۲۸،۴۸). این سلنوپروتئین‌ها در تنظیم عملکردهای مختلف فیزیولوژیکی از جمله محافظت از آنتی‌اکسیدان‌ها، تنظیم ردوکس بیان ژن، متابولیسم تیروئید و حفظ یکپارچگی ساختار اسپرم درگیر هستند (۴۳). نشان داده شده است که سلیوم یک عنصر تشکیل‌دهنده اسپرم و از عناصر اساسی برای اسپرماتوژنز است (۵۰). در بیضه‌ها، چندین سلنوپروتئین مانند سلنوسفات سنتاز (SPS-2) و سلنوپروتئین میتوکندریایی وجود دارند (۲۱،۱۴). عمل بیولوژیکی سلیوم در پستانداران از طریق ترکیبات فعال زیستی شامل آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و سایر سلنوپروتئین‌های سرم و بافت بیان می‌شود (۲۴). سلیوم از طریق مشارکت در محل فعال آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز، که هم در پلاسمای منی و هم در اسپرم وجود دارد، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. این عنصر، در باروری جنس نر ضروری و نقش بسیار مهمی را می‌تواند برعهده داشته باشد (۲۳). استفاده از منابع سلیومی مانند سلنومتیونین، باعث افزایش کمیت و کیفیت مایع منی می‌شود (۱۸). عنصر سلیوم می‌تواند در حالت اکسیداسیون یا احیاء به شکل سلنیت سدیم، سلنات سدیم و سلنید سدیم وجود داشته باشد. بنابراین سلیوم معدنی را می‌توان در اشکال مختلف نظیر سلنیت سدیم، سلنات سدیم و سلنید سدیم دید که رایج‌ترین نوع معدنی آن سلنیت سدیم است (۹). امروزه برای جلوگیری از بیماری‌ها، بیشتر از فرم آلی استفاده می‌شود، چون مشخص شده است که سلنیت سدیم سمیت بیشتری نسبت به این مکمل‌ها (سلیوم آلی) دارد (۴۶). در مطالعه‌ای، نشان داده شد که مکمل‌سازی جیره خروس با سطوح ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک سلیوم آلی (سلپلکس) هیچ تأثیری بر غلظت، حجم و pH اسپرم نداشت ولی مکمل‌سازی جیره خروس با ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک سلیوم آلی (سلپلکس) می‌تواند سبب بهبود کیفیت اسپرم خروس گردد (۲).

هدف از مطالعه حاضر مقایسه منابع مختلف سلیومی با منشاء معدنی و آلی بر فرآیندهای کیفی اسپرم منجمد یخ‌گشایی شده خروس‌های گله مادر گوشتی تحت القاء تنش اکسیداتیو با استفاده از تزریق دگزامتازون، می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### مکان انجام آزمایش و تیمارهای آزمایشی

این تحقیق، در واحد مرغداری دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز انجام شد. به‌منظور انجام این آزمایش، از ۲۴ خروس سویه راس ۳۰۸ با سن ۲۸ هفته در ۴ تیمار و ۶ پرنده در هر تیمار استفاده شد. خروس‌ها در قفس‌های انفرادی و تحت شرایط، ۱۵ ساعت روشنایی و ۹ ساعت تاریکی قرار گرفته و تغذیه آنها به‌صورت دستی و در دو نوبت صبح و عصر انجام گرفت و از طریق آبجوری نیپلی،

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی

Table 1. Feed ingredients and composition of experimental diet

ترکیب جیره	درصد	اقلام خوراکی
انرژی (۳۷۵۰) کیلوکالری در کیلوگرم	۵۷	ذرت
پروتئین (۱۲ درصد)	۱۰	سویا
متیونین (۰/۳۲ درصد)	۱۱	جو
لازین (۰/۵ درصد)	۱۸	سوس
ترئونین (۰/۳۸ درصد)	۱/۳	دی کلسیم فسفات
کلسیم (۰/۷ درصد)	۱/۶	صدف
فسفر (۰/۳۵ درصد)	۰/۵	مکمل معدنی ویتامینه
سدیم (۰/۱۸ درصد)	۰/۳	نمک
کلر (۰/۱۶ درصد)	۰/۰۵	جوش شیرین
اسیدلینولیک ۱	۰/۱۱	متیونین
	۰/۰۱	ویتامین B
	۰/۰۱	ویتامین E
	۰/۰۱	کولین کلراید

۱- هر کیلوگرم مکمل ویتامینی شامل: ویتامین A ۳۶۰۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین D3 ۸۰۰۰۰ واحد بین المللی، ویتامین E ۷۲۰۰ واحد بین المللی، ویتامین B1 ۷۲۰ میلی گرم، ویتامین B2 ۲۶۴۰ میلی گرم، اسید پانتوتینیک ۴۰۰۰ میلی گرم، اسید نیکوتینیک ۱۲۰۰۰ میلی گرم، ویتامین B6 ۱۲۰۰ میلی گرم، اسید فولیک ۴۰۰ میلی گرم، ویتامین B12 ۶ میلی گرم، ویتامین K3 ۸۰۰ میلی گرم، بیوتین ۴۰ میلی گرم، کولین کلراید ۱۰۰۰۰۰ میلی گرم و آنتی اکسیدان ۴۰۰۰۰ میلی گرم، ۴۰ گرم منگنز به شکل سولفات منگنز، ۸۰ میلی گرم سلنیوم، ۵۰ گرم آهن به شکل سولفات آهن، ۱۰ گرم مس به شکل سولفات مس، ۴۰۰ میلی گرم ید

جدول ۲- اجزای تشکیل دهنده رقیق کننده بلتسویل بهبود یافته

Table 2. Composition of modified Beltsville extender

مقدار	ترکیبات شیمیایی
۷/۵۹ گرم در لیتر	دی پتاسیم فسفات
۸/۶۷ گرم در لیتر	سدیم گلوتامات
۵ گرم در لیتر	فروکتوز
۳/۲ گرم در لیتر	سدیم استات
۳/۲ گرم در لیتر	تریس
۰/۶۴ گرم در لیتر	پتاسیم سیترات
۰/۷ گرم در لیتر	مونو پتاسیم فسفات
۰/۳۴ گرم در لیتر	کلراید منیزیم
۳ درصد	کلیسرول
۰/۵ درصد	لسیتین

### ارزیابی تحرک اسپرم با دستگاه کاسا

جهت ارزیابی فرآیندهای حرکتی اسپرم از قبیل تحرک کل، تحرک پیش رونده، 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 از سیستم آنالیز رایانه‌ای مجهز به میکروسکوپ فاز کنتراست با بزرگنمایی ۱۰۰ استفاده شد. بدین منظور سه پایوت از هر گروه تیماری با روشی که در بالا توضیح داده شد، یخ‌گشایی شده و به داخل میکروتیوب‌ها انتقال داده شدند، سپس ۱۰ میکرولیتر از نمونه منی رقیق شده را روی لام ریخته و یک لامل تمیز روی آن قرار داده شد و فرآیندهای جنبایی اسپرم با استفاده از کامپیوتر ارزیابی شد (۱۳).

### وضعیت زنده‌مانی اسپرم

وضعیت زنده‌مانی اسپرم‌ها به وسیله رنگ‌آمیزی ائوزین-نگروزین حاوی رنگ ائوزین (۱/۶۷ گرم)، رنگ نیگروزین (۱۰ گرم) و سیترات سدیم (۲/۹ گرم) در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر، بررسی شد. برای این منظور، ۱۰ میکرولیتر منی رقیق شده را با ۲۰ میکرولیتر رنگ روی لام تمیز به آرامی مخلوط کرده و پس از تهیه گسترش و خشک شدن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، زنده‌مانی تعداد ۲۰۰

اسپرم به وسیله میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰× مورد بررسی قرار گرفت. اسپرم‌هایی که رنگ نگرفته بودند، زنده و اسپرم‌هایی که رنگ گرفته بودند، مرده تلقی شدند (۲۰).

### ارزیابی یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم

در این آزمایش، از تست هایپواسموتیک (HOST) به منظور بررسی یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم استفاده شد. برای این منظور ۱۰ میکرولیتر از مایع منی به ۱۰۰ میکرولیتر از محیط هایپواسموتیک هاست که حاوی ۹ گرم فروکتوز، ۴/۹ گرم سیترات سدیم، ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر با اسمولاریته ۱۰۰ میلی اسمول است، اضافه شد و سپس ۶۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از انکوباسیون و تهیه حداقل ۳ قطره از نمونه انکوبه شده، وضعیت اسپرم‌های با دم صاف و دم پیچیده زیر میکروسکوپ با عدسی ۴۰× مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. با توجه به اینکه اسمولاریته مورد نیاز برای اسپرم ۳۲۰-۳۷۵ میلی اسمول است، اسپرم با قرار گرفتن در این محیط به سرعت واکنش داده و انتهای دم آن‌ها گره می‌خورد. در واقع پس از انجام این آزمایش، اسپرم‌های با دم گره خورده به‌عنوان اسپرم‌های دارای غشاء یکپارچه و اسپرم‌های که دم آن‌ها صاف است به‌عنوان اسپرم داری غشاء غیر یکپارچه تلقی شدند (۳۸).

### شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی

برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید، مقدار یک میلی‌لیتر از منی رقیق شده با یک میلی‌لیتر کلرید سدیم ۰/۹ درصد مخلوط شده و سپس نمونه‌ها با دور ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و به‌تعداد سه بار با بافر سیترات شستشو و مجدداً سانتریفیوژ شدند. در نهایت محلول رویی دور ریخته شده و رسوب باقیمانده اسپرم‌ها در یک میلی‌لیتر آب دیونیزه حل شده و تا زمان انجام تست، نمونه‌ها در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی‌آلدئید مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از هر نمونه را برداشته و با یک میلی‌لیتر محلول اسید تری‌کلریدریک ۲۰ درصد و تیوباربیتریک 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 مالون دی‌آلدئید محلول بالایی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۸۶ نانومتر خوانده شده و غلظت مالون دی‌آلدئید ثبت شد (۳۵).

### اندازه‌گیری فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و اندازه‌گیری ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گلوکوتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز موجود در پلاسمای منی و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی پلاسمای منی توسط کیت‌های تجاری شرکت طب پژوهان (ایران-تهران) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد.

### آنالیز آماری

به‌منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌های جمع‌آوری شده، از نرم‌افزار SAS، در قالب طرح کاملاً تصادفی تحت رویه GLM و براساس مدل آماری زیر با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده شد.

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

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

### نتایج و بحث

داده‌های مربوط به فرآیندهای حرکتی اسپرم، در (جدول ۳) ارائه شده است. با توجه به این جدول، مشاهده می‌شود که سلیوم آلی دارای بهترین عملکرد بوده و تحرک کل اسپرم در این تیمار در مقایسه با تیمار شاهد همراه با دگزامتازون و سلیوم معدنی همراه با دگزامتازون، تفاوت

معنی‌داری نشان داد ( $p < 0/05$ ). تحرک پیش‌رونده اسپرم در تیمار سلیوم آلی در مقایسه با تیمار شاهد، اختلاف معنی‌داری ندارد ( $p > 0/05$ ) ولی در مقایسه با شاهد همراه با دگزامتازون و سلیوم معدنی همراه با دگزامتازون، تفاوت معنی‌داری نشان داد ( $p < 0/05$ ). در آزمایشی که بر روی خروس انجام شد، نشان داده شد که استفاده از دگزامتازون به مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، سبب کاهش در تحرک اسپرم در مقایسه با تیمار شاهد شد (۱۹). مکمل سلیوم باعث افزایش فعالیت آنزیمی با استفاده از ATP و مسیره‌های احیا کننده ATP در اسپرم می‌شود که با تحرک و مصرف اکسیژن اسپرم ارزیابی می‌شوند (۳۷،۳۰). تغییرات در وضعیت سیستم آنتی‌اکسیدانی اسپرم خروس و پلاسمای منی اطراف آن در حین انجماد ممکن است بر کیفیت منی و توانایی لقاح اسپرم تأثیر بگذارد (۳۴). همچنین در مطالعه‌ای دیگر نیز افزایش تحرک اسپرماتوزوئیدها در خروس‌ها، پس از مکمل‌سازی با سلیوم آلی ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک (سلپلکس)، نشان داده شده است (۱۷). در مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند هنگامی که ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک، سلیوم آلی به رژیم غذایی خروس اضافه شود، درصد اسپرم‌های نرمال تا ۹۸/۷ درصد، افزایش می‌یابد (۱۸). به‌طور مشابه، در مطالعه انجام شده بر روی خوک، نشان داده شد، کمترین کاهش در تحرک پیش‌رونده در طول ۷ روز ذخیره‌سازی، در تیمار سلیوم آلی (سلپلکس) ppm ۰/۳، در مقایسه با تیمارهای سلیوم معدنی (سدیم سلیت) ppm ۰/۳ و شاهد مشاهده شد (۳۶). به‌جز دو پارامتر سرعت در مسیر مستقیم و خطی بودن تحرک، که در تمامی تیمارها غیرمعنی‌دار هستند، سایر پارامترهای حرکتی اسپرم از قبیل، میانگین سرعت در مسیر، درصد مستقیم‌الخط بودن حرکت اسپرم‌ها، تحرک عرضی سر، نیز در تیمار سلیوم آلی که دگزامتازون نیز دریافت کرده بود، دارای بیشترین مقدار بوده در حالی که گروه آزمایشی شاهد دریافت‌کننده دگزامتازون، کمترین مقادیر را نشان داد ( $p < 0/05$ ). سرعت در مسیر منحنی، در تیمار شاهد بیشترین مقدار بود ولی اختلاف معنی‌داری با تیمار سلیوم آلی نداشت. در مورد فرکانس حرکات جانبی تیمارهای شاهد و سلیوم آلی مقادیر کمتری نسبت به تیمارهای شاهد همراه با دگزامتازون و سلیوم معدنی نشان دادند. این فرآیندها نیز موید اثر مثبت سلیوم بر پارامترهای اسپرم می‌باشد، زیرا در پژوهش‌های دیگر نشان داده شده است که پارامترهای حرکتی ارتباط توأم و نزدیکی با تحرک اسپرم دارند (۲۷).

جدول ۳- اثرات منابع آلی و معدنی سلیوم بر تحرک و فرآیندهای حرکتی اسپرم منجمد یخ گشایی شده خروس‌های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو

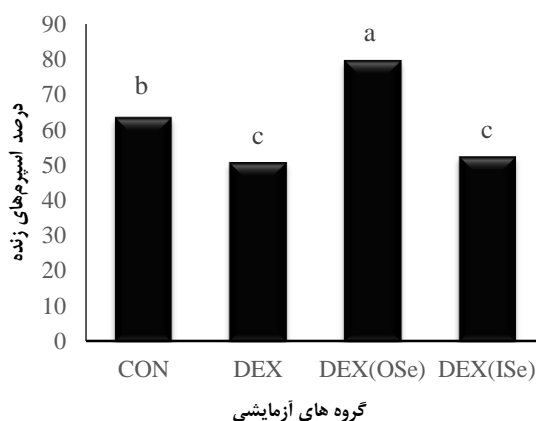
Table 3. Effects of organic and inorganic forms of selenium on motility and motility parameters of frozen-thawed sperm in broiler breeder roosters under oxidative stress

پارامترها	CON <sup>۱</sup>	DEX	DEX <sub>(OSe)</sub>	DEX <sub>(ISe)</sub>	خطای استاندارد	سطح معنی‌داری
تحرک کل اسپرم (%)	۶۸/۸۶ <sup>b</sup>	۴۹/۱۶ <sup>c</sup>	۷۹/۹ <sup>a</sup>	۵۴/۵ <sup>c</sup>	۱	<۰/۰۰۰۱
تحرک پیش‌رونده اسپرم (%)	۲۶/۳۳ <sup>a</sup>	۱۲/۴۶ <sup>b</sup>	۳۲/۸۶ <sup>a</sup>	۱۵/۶۳ <sup>b</sup>	۱/۳۵	۰/۰۰۶۶
میانگین سرعت در مسیر (میکرومتر بر ثانیه)	۱۹/۰۸ <sup>a</sup>	۱۱/۹۹ <sup>b</sup>	۲۰/۶۳ <sup>a</sup>	۱۵/۰۳ <sup>ab</sup>	۱	۰/۰۳۱۴
سرعت در مسیر مستقیم (میکرومتر بر ثانیه)	۱۴/۸۳	۹/۴۸	۱۷/۰۹	۱۲/۱۱	۰/۹۹	۰/۰۶۲۴
سرعت در مسیر منحنی (میکرومتر بر ثانیه)	۵۳/۲۸ <sup>a</sup>	۳۴/۹۲ <sup>c</sup>	۴۷/۳۰ <sup>ab</sup>	۴۲/۰۳ <sup>bc</sup>	۱/۱۹	۰/۰۰۴۷
خطی بودن تحرک (%)	۲۵/۶۶	۲۲/۲۵	۳۷/۷۳	۲۷/۸۳	۱/۴۱	۰/۰۶۱۲
درصد مستقیم‌الخط بودن حرکت اسپرم‌ها (%)	۷۰/۸۵ <sup>ab</sup>	۶۴/۴۵ <sup>d</sup>	۷۵/۶۰ <sup>a</sup>	۷۳/۶۷ <sup>a</sup>	۱/۱۴	۰/۰۲۸۲
تحرک عرضی (سر میکرومتر)	۱/۴۸ <sup>a</sup>	۰/۹ <sup>d</sup>	۱/۳۳ <sup>ab</sup>	۱/۰۹ <sup>d</sup>	۰/۱۹	۰/۰۰۲۱
فرکانس حرکات جانبی (هرتز)	۱۴/۱۹ <sup>d</sup>	۱۶/۰۸ <sup>a</sup>	۱۴/۲۱ <sup>d</sup>	۱۶/۶۹ <sup>a</sup>	۰/۵۳	۰/۰۱۳۸

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 سلیوم و یا تجویز دگزاتازون)، DEX: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با تجویز دگزاتازون، DEX(OSe): گروه دریافت کننده دگزاتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلیوم آلی و DEX(ISe): گروه دریافت کننده دگزاتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلیوم معدنی.

گلوکاتینون ترکیب شده و منجر به تولید سوپراکسیدها و نیز دیگر مشتقات اکسیژنی فعال در بافت‌ها و سلول‌های مربوطه که سلنیت سدیم در آنها تجمع دارد، شده و باعث تأثیرات منفی مانند آسیب دیدگی غشای سلولی و کاهش زنده‌مانی سلول شود؛ زیرا گلوکاتینون پروکسیداز بخش بسیار مهمی از سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول در محافظت از غشای سلولی در برابر عوامل اکسید کننده می‌باشد (۴۰). خروس‌هایی که دگزاتازون به آنها تزریق شده بود نیز دارای درصد زنده‌مانی پایین بودند؛ نتایج پژوهش حاضر، با نتایج آزمایش عید و همکاران (۱۹) مطابقت دارد که در آن نشان دادند، استفاده از دگزاتازون به مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن سبب افزایش درصد اسپرم‌های مرده می‌شود.

با توجه به داده‌های موجود در (شکل ۱) مشاهده می‌شود که سلیوم آلی (۷۹/۸۴ درصد)، زنده‌مانی اسپرم‌ها در برابر شوک سرمایی وارد شده موقع انجماد را توانسته به خوبی کنترل کند و این تیمار دارای بیشترین مقدار زنده‌مانی بوده و از نظر آماری نیز اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان می‌دهد ( $p < 0.05$ ). افزایش زنده‌مانی اسپرم پس از دوره انجماد-یخ‌گشایی، با مکمل‌سازی سلیوم در جیره گاو‌میش نیز نشان داده شده است (۲۵). برخلاف سلیوم آلی، مکمل‌سازی جیره مصرفی با سلیوم معدنی نتوانسته به خوبی اثرات منفی تنش ایجاد شده توسط دگزاتازون بر زنده‌مانی اسپرم را کاهش دهد. دلیل این امر شاید مربوط به تبدیل شدن سلنیت سدیم به مشتقات دیگری مانند سلنیدها و یا دی‌اکسید سلیوم باشد که می‌تواند با ملکول‌های زیستی مانند



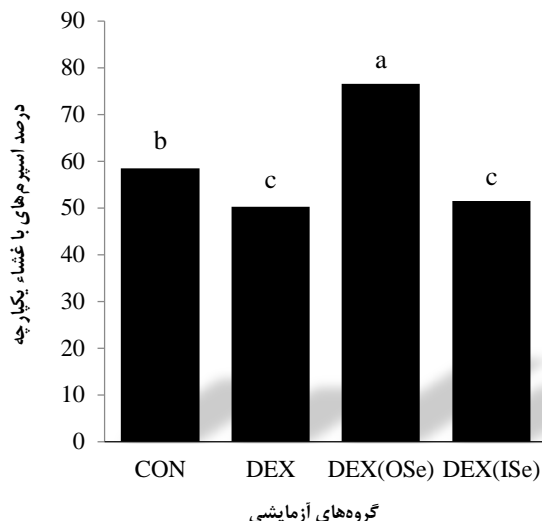
شکل ۱- اثرات منابع آلی و معدنی سلیوم بر زنده‌مانی اسپرم منجمد یخ‌گشایی شده خروس‌های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو.  
 Figure 1. Effects of organic and inorganic forms of selenium on sperm viability of frozen-thawed sperm in broiler breeder roosters under oxidative stress.

شکل ۲، نشان‌دهنده مطالعه یک پارچگی غشای پلاسمایی اسپرم می‌باشد. با توجه به این شکل، مشاهده می‌شود، یک پارچگی غشای پلاسمایی در گروه آزمایشی مصرف کننده سلیوم آلی در حداکثر مقدار نسبت به گروه‌های آزمایشی دیگر بوده و با آنها اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد

شکل ۲، نشان‌دهنده مطالعه یک پارچگی غشای پلاسمایی اسپرم می‌باشد. با توجه به این شکل، مشاهده می‌شود، یک پارچگی غشای پلاسمایی در گروه آزمایشی مصرف کننده سلیوم آلی در حداکثر مقدار نسبت به گروه‌های آزمایشی دیگر بوده و با آنها اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد

مذکور را کاهش دهد. همین نتیجه یاد شده نیز در مورد فراسنجه یک پارچگی غشای پلاسمایی (نمودار ۲) مشاهده می‌شود.

تیمارهای مصرف کننده مکمل سلنیوم چه بصورت آلی و چه به صورت معدنی، تزریق دگزامتازون نیز انجام شده است. و در این رابطه گویا به نظر می‌رسد مصرف کننده تیمار معدنی نسبت به تیمار آلی، نتوانسته اثرات منفی دگزامتازون در گروه



شکل ۲- اثرات منابع آلی و معدنی سلنیوم بر یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم منجمد یخ‌گشایی شده خروس‌های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو

Figure 2. Effects of organic and inorganic forms of selenium on plasma membrane integrity of frozen-thawed sperm in broiler breeder roosters under Oxidative stress

ولی در مقایسه با تیمار شاهد و شاهد همراه با دگزامتازون به‌طور معنی‌داری بالاتر بودند ( $p < 0.05$ ). حداقل ۵۰ درصد از مواد کپسولی را پروتئین گلوپروتئین پراکسیداز شامل می‌شود که ماریچ میتوکندری را در خود جای داده است (۴۷). با توجه به فعالیت گلوپروتئین پراکسیداز در پلاسمای منی، آنزیم حاوی سلنیوم، گلوپروتئین پراکسیداز، نقش مهمی را در سم‌زدایی از هر پراکسید لیپیدی که در اسپرم خروس ظاهر می‌شود، دارد (۲۲). در طیور، حدود ۶۰ درصد از شکل وابسته به سلنیوم از گلوپروتئین پراکسیداز در اسپرماتوزوآ در پلاسمای منی و ۴۰ درصد در اسپرماتوزوآ مشاهده می‌شود (۴۱) در حالی که در مطالعه سوریا و همکاران (۴۲) که مصرف سلنیوم (۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) در رژیم غذایی جنس نر باعث افزایش فعالیت وابسته به گلوپروتئین پراکسیداز می‌شود که با محافظت بیشتر در برابر پراکسیداسیون لیپیدها در مایع منی مرتبط است. در مطالعه‌ای دیگر، نشان داده شد خروس‌های تغذیه شده با سلنیوم آلی (سلپلکس) به مقدار ۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک، میزان فعالیت گلوپروتئین پراکسیداز منی افزایش یافت (۱۷). گلوپروتئین پراکسیداز آنزیم آنتی‌اکسیدانی است که همانند سوپراکسید دیسموتاز با مانع از پراکسیداسیون لیپید موجود در غشای اسپرم و در نهایت از طریق بهبود حرکت اسپرم، بر عملکرد اسپرم تأثیر می‌گذارد (۳۳). گلوپروتئین پراکسیداز، نقش مهمی در تولید اسپرم، بلوغ و باروری آن داشته و عدم وجود این آنزیم منجر به کاهش ظرفیت بارورسازی اسپرم می‌گردد (۳۳). در تحقیقی، اثرات سطوح مختلف سلنیوم معدنی جیره (سدیم سولفات ۰/۵، ۱ و ۲

داده‌های مربوط به پارامترهای بیوشیمیایی در جدول (۴) نشان شده است. با نگاه به این جدول مشاهده می‌شود که مالون دی‌آلدئید در تیمارهای سلنیوم آلی و معدنی به‌همراه دگزامتازون در مقایسه با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داده ( $p < 0.05$ ). به گونه‌ای که مالون دی‌آلدئید تولید شده در این ۲ تیمار در مقایسه با سایر تیمارها کمترین مقدار می‌باشد و در تیمار شاهد همراه با دگزامتازون بیشترین مقدار می‌باشد. نشان داده شده است که در اسپرم خروس، کیفیت ضعیف مایع منی مانند تحرک اسپرم با مقادیر بیشتری از مالون دی‌آلدئید همراه است (۳). پراکسیداسیون باعث ایجاد تغییرات نامطلوب در ساختار بخش آکروزومی اسپرم‌ها می‌شود و در نتیجه تحرک و زنده ماندن اسپرم‌ها را کاهش می‌دهد (۱۵). عید و همکاران (۱۹) نشان دادند که تنش ممکن است پراکسیداسیون لیپیدها را در پلاسمای منی و همچنین در غشای اسپرماتوزوای بالغ، در خروس افزایش دهد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نیز تأییدکننده داده‌های مالون دی‌آلدئید بوده و نشان می‌دهد که مکمل‌سازی سلنیوم آلی و معدنی در گروه‌های دریافت کننده دگزامتازون توانسته است به‌خوبی اثرات سرکوب‌کنندگی دگزامتازون را از بین ببرد. با نگاه به جدول (۴)، مشاهده می‌شود که ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی در تیمارهای شاهد و شاهد همراه با دگزامتازون نسبت به دو تیمار قبلی کاهش یافته به‌گونه‌ای که از نظر عددی به ترتیب برابر با ۱/۱۶ و ۱/۰۱ می‌باشند. فعالیت آنزیمی گلوپروتئین پراکسیداز تولید شده در تیمارهای مصرف‌کننده سلنیوم آلی و معدنی به‌همراه دگزامتازون اختلاف معنی‌داری نشان ندادند؛

دیسموتاز، شرایط خوبی را دارد ولی در تیمار شاهد و شاهد همراه با دگزامتازون کاهش یافته و کمترین مقدار برای تیمار کنترل به‌همراه دگزامتازون می‌باشد. سوپراکسید دیسموتاز، مهم‌ترین و اولین آنزیم آنتی‌اکسیدانی در تمام ارگان‌سیم‌های هوازی می‌باشد که در کاهش مستقیم مشتقات اکسیژنی فعال، نقش دارد (۱۲). سوپراکسید دیسموتاز ثابت شده است که به ایفای نقش کلیدی در دفاع سلولی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو می‌پردازد. آنزیم SOD دیسموتاسیون O<sub>2</sub> را به H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> کاتالیز می‌کند (۴).

میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) بر شرایط آنتی‌اکسیدانی در بیضه خروس‌ها مورد مطالعه قرار گرفت و مشاهده شد که فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک، سدیم سلنیت، حداکثر بوده و میزان مالون دی‌آلدهید در کمترین مقدار خود می‌باشد (۳۹). داده‌های مربوط به پارامتر سوپراکسید دیسموتاز موجود در جدول (۴) نشان می‌دهند که تیمار سلنیوم آلی به‌مراتب بهتر از سایر گروه‌های آزمایشی بوده و اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با تیمارهای دیگر نشان می‌دهد (p<۰/۰۵). سلنیوم معدنی نیز نسبت به تیمار شاهد از نظر تولید سوپراکسید

جدول ۴- اثرات منابع آلی و معدنی سلنیوم بر پارامترهای بیوشیمیایی اسپرم منجمد یخ‌گشایی شده خروس‌های مادر گوشتی تحت تنش اکسیداتیو

Table 4. Effects of organic and inorganic forms of selenium on biochemical parameters of frozen-thawed sperm in broiler breeder roosters under oxidative stress

سطح معنی‌داری	خطای استاندارد	تیمارهای آزمایشی				پارامترها
		DEX <sub>(ISe)</sub>	DEX <sub>(OSe)</sub>	DEX	CON <sup>۱</sup>	
۰/۰۰۰۳	۰/۴۵	۵/۳۹ <sup>c</sup>	۵/۷۱ <sup>c</sup>	۹/۱۱ <sup>d</sup>	۶/۹۳ <sup>cd</sup>	مالون دی‌آلدهید (nmol/ml)
۰/۰۰۴۳	۰/۱۳	۱/۱۹ <sup>cd</sup>	۱/۲۸ <sup>d</sup>	۱/۰۱ <sup>b</sup>	۱/۱۶ <sup>ab</sup>	ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (U/ml)
۰/۰۰۰۱	۱/۱۳	۶۹/۳ <sup>a</sup>	۷۱/۱۳ <sup>a</sup>	۴۶/۱۶ <sup>c</sup>	۵۵/۶۹ <sup>d</sup>	گلوتاتیون پراکسیداز (U/ml)
۰/۰۰۲۴	۱/۴۶	۱۱۶/۵ <sup>d</sup>	۱۳۴/۲ <sup>a</sup>	۱۰۳/۴۵ <sup>c</sup>	۱۱۱/۷۳ <sup>bc</sup>	سوپر اکسید دیسموتاز (U/ml)

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 با تجویز دگزامتازون)، DEX: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با تجویز دگزامتازون، DEX<sub>(OSe)</sub>: گروه دریافت کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلنیوم معدنی.

بر بهبود فرآیندهای حرکتی از قبیل تحرک کل، تحرک پیش‌رونده، میانگین سرعت در مسیر، سرعت در مسیر مستقیم، سرعت در مسیر منحنی، خطی بودن تحرک، درصد مستقیم‌الخط بودن حرکت اسپرم‌ها، تحرک عرضی سر، فرکانس حرکات جانبی و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی اسپرم دارد.

تزریق دگزامتازون سبب ایجاد تنش اکسیداتیو شده که منجر به کاهش تحرک اسپرم و فرآیندهای حرکتی و همچنین افزایش پراکسیداسیون اسیدهای چرب، کاهش ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی، می‌گردد. به‌نظر می‌رسد، مکمل سازی جیره مصرفی با سلنیوم بتواند از اثرات منفی تنش بکاهد و نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که سلنیوم آلی نسبت به فرم معدنی، موثرتر بوده و تأثیر بسزایی

## منابع

- Agarwal, A., K.P. Nallella, S.S. Allamaneni and T.M. Said. 2004. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reproductive Biomedicine Online*, 8: 616-627.
- Ahangari, Y., B. Parizadian and M. Zamani. 2013. The impact of organic selenium supplementation on rooster semen quality in liquid condition. *Poultry Science Journal*, 1: 23-31.
- Amini, M.R., H. Kohram, A. Zare-Shahaneh, M. Zhandi, H. Sharideh and M.M. Nabi. 2015. The effects of different levels of catalase and superoxide dismutase in modified Beltsville extender on rooster post thawed sperm quality. *Cryobiology*, 70: 226-232.
- Avunduk, A.M., S. Yardımcı, M.C. Avunduk, L. Kurnaz and M. Cengiz. 2000. A Possible Mechanism of X-Ray-Induced Injury in Rat Lens. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 44: 88-91.
- Badade, Z., K. More and J. Narshetty. 2011. Oxidative stress adversely affects spermatogenesis in male infertility. *Biomedical Research*, 22(3): 319-322.
- Baumber, J., B.A. Ball, J.J. Linfor and S.A. Meyers. 2003. Reactive oxygen species and cryopreservation promote DNA fragmentation in equine spermatozoa. *Journal of Andrology*, 24: 621-628.
- Brouwers, J.F and B.M. Gadella. 2003. In situ detection and localization of lipid peroxidation in individual bovine sperm cells. *Free Radical Biology Medicine*, 35: 1382-1391.
- Burrows, W. and J. Quinn. 1937. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poultry Science*, 16: 19-24.
- Carvalho, F., J. Stringhini, N. Leandro, R. Jardim, W. Cunha and M. Café. 2003. Influência das linhagens e idades de poedeiras comerciais na qualidade interna e da casca para ovos armazenados sobre diferentes temperaturas. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 101: 101.
- Cerolini, S., A. Maldjian, P. Surai and R. Noble. 2000. Viability, susceptibility to peroxidation and fatty acid composition of boar semen during liquid storage. *Animal Reproduction Science*, 58: 99-111.
- Chandra, G., A. Aggarwal, A. Singh, A. Singh, M. Kumar, R. Kushwaha and Y. Singh. 2012. Oxidative stress in sperm biology-a review. *Agricultural Reviews*, 33: 54-61.

12. Cunningham, M.L., P.S. Ringrose and B.R. Lokesh. 1984. Inhibition of the genotoxicity of bleomycin by superoxide dismutase. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 135: 199-202.
13. Da Silva Maia, M., S.D. Bicudo, H.C. Azevedo, C.C. Sicherle, D.B. Sousa and L. Rodello. 2009. Motility and viability of ram sperm cryopreserved in a Tris-egg yolk extender supplemented with anti oxidants. *Small Ruminant Research*, 85: 85-90.
14. Davis, C.D., P.A. Tsuji and J.A. Milner. 2012. Selenoproteins and cancer prevention. *Annual Review of Nutrition*, 32: 73-95.
15. Dimitrov, S., V. Atanasov, P. Surai and S. Denev. 2007. Effect of organic selenium on turkey semen quality during liquid storage. *Animal Reproduction Science*, 100: 311-317.
16. Duru, N.K., M. Morshedi and S. Oehninger. 2000. Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa. *Fertility Sterility*, 74: 1200-1207.
17. Ebeid, T. 2009. Organic selenium enhances the antioxidative status and quality of cockerel semen under high ambient temperature. *British Poultry Science*, 50: 641-647.
18. Edens, F. 2002. Practical applications for selenomethionine: broiler breeder reproduction. In: *Proceeding of the 18th annual symposium: nutritional biotechnology in the feed and food industry*. Nottingham University Press, Nottingham, 29-42.
19. Eid, Y., T. Ebeid and H. Younis. 2006. Vitamin E supplementation reduces dexamethasone-induced oxidative stress in chicken semen. *British Poultry Science*, 47: 350-356.
20. Evans, G. and W.C. Maxwell. 1987. Salamons' artificial insemination of sheep and goats. Butterworths.
21. Fairweather-Tait, S.J., R. Collings and R. Hurst. 2010. Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91: 1484S-1491S.
22. Froman, D. and R. Thurston. 1981. Chicken and turkey spermatozoal superoxide dismutase: a comparative study. *Biology of Reproduction*, 24: 193-200.
23. Hansen, J. and Y. Deguchi. 1996. Selenium and fertility in animals and man--a review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 37: 19-30.
24. Hill, K.E., Y. Xia, B. Åkesson, M.E. Boeglin and R.F. Burk. 1996. Selenoprotein P concentration in plasma is an index of selenium status in selenium-deficient and selenium-supplemented Chinese subjects. *The Journal of Nutrition*, 126: 138-145.
25. Jamali, N.U., A. Kaka, P. Khatri, M. Malhi, M. Naeem, A.A. Memon, R.R. Kaleri, H. Janyaro and D.H. Kalhoro. 2019. Effect of in vitro selenium addition to the semen extender on the spermatozoa characteristics before and after freezing in Kundhi Buffalo bull and in vivo fertility rate. *Pakistan Journal of Zoology*, 51: 317-323.
26. Kefer, J.C., A. Agarwal and E. Sabanegh. 2009. Role of antioxidants in the treatment of male infertility. *International Journal of Urology*, 16: 449-457.
27. King, L. M., D.R. Holsberger and A.M. Donnoghue. 2000. Correlation of CASA velocity and linearity parameters with sperm motility phenotype in turkeys. *Journal of Andrology*, 21: 65-71.
28. Kryukov, G.V., S. Castellano, S.V. Novoselov, A.V. Lobanov, O. Zehtab, R. Guigó and V.N. Gladyshev. 2003. Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science*, 300: 1439-1443.
29. Li, M.W., S. Meyers, T.L. Tollner and J.W. Overstreet. 2007. Damage to chromosomes and DNA of rhesus monkey sperm following cryopreservation. *Journal of Andrology*, 28: 493-501.
30. Marin-Guzman, J., D. Mahan and R. Whitmoyer. 2000. 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. *Journal of Animal Science*, 78: 1544-1550.
31. Min, Y., Z. Niu, T. Sun, Z. Wang, P. Jiao, B. Zi, P. Chen, D. Tian and F. Liu. 2018. 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. *Poultry Science*, 97: 1238-1244.
32. Nabi, M.M., H. Kohram, M. Zhandi, H. Mehrabani-Yeganeh, H. Sharideh, A. Zare-Shahaneh and V. Esmaili. 2016. Comparative evaluation of Nabi and Beltsville extenders for cryopreservation of rooster semen. *Cryobiology*, 72: 47-52.
33. Olson, G.E., V.P. Winfrey, K.E. Hill and R.F. Burk. 2004. Sequential development of flagellar defects in spermatids and epididymal spermatozoa of selenium-deficient rats. *Reproduction*, 127: 335-342.
34. Partyka, A., E. Łukaszewicz and W. Niżański. 2012. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in avian semen. *Animal Reproduction Science*, 134: 184-190.
35. Peris, S.I., J.F. Bilodeau, M. Dufour and J.L. Bailey. 2007. Impact of cryopreservation and reactive oxygen species on DNA integrity, lipid peroxidation, and functional parameters in ram sperm. *Molecular Reproduction Development*, 74: 878-892.
36. Petrujkić, B., D. Šefer, I. Jovanović, M. Jovičin, S. Janković, G. Jakovljević, R. Beier and R. Anderson. 2014. Effects of commercial selenium products on glutathione peroxidase activity and semen quality in stud boars. *Animal Feed Science Technology*, 197: 194-205.
37. Pratt, W.D., F.A. Murray, H. Conrad, A. Moxon and J.E. Kinder. 1980. Effects of selenium supplementation on bull sperm metabolism in vitro. *Theriogenology*, 13: 369-379.
38. Revell, S., and R. Mrode. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Animal Reproduction Science*, 36: 77-86.

39. Shi, L., H. Zhao, Y. Ren, X. Yao, R. Song and W. Yue. 2014. Effects of different levels of dietary selenium on the proliferation of spermatogonial stem cells and antioxidant status in testis of roosters. *Animal Reproduction Science*, 149: 266-272.
40. Spallholz, J.E. 1997. Free radical generation by selenium compounds and their prooxidant toxicity. *Biomedical and Environmental Sciences*, 10: 260-270.
41. Surai, P., E. Blesbois, I. Grasseau, T. Chalah, J.P. Brillard, G. Wishart, S. Cerolini and N. Sparks. 1998. Fatty acid composition, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity and total antioxidant activity of avian semen. *Comparative Biochemistry Physiology Part B: Biochemistry Molecular Biology*, 120: 527-533.
42. Surai, P., I. Kostjuk, G. Wishart, A. Macpherson, B. Speake, R. Noble, I. Ionov and E. Kutz. 1998. Effect of vitamin E and selenium supplementation of cockerel diets on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation susceptibility in sperm, testes, and liver. *Biological Trace Element Research*, 64: 119-132.
43. Surai, P.F. 2002. *Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction*. Nottingham University Press Nottingham.
44. Surai, P.F. 2006. *Selenium in nutrition and health*. Nottingham university press Nottingham.
45. Surai, P.F. and V.I. Fisinin. 2015. Selenium in pig nutrition and reproduction: Boars and semen quality. A Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28: 730.
46. Underwood, E.J. 1999. *The Mineral Nutrition of Livestock*. Cabi.
47. Ursini, F., S. Heim, M. Kiess, M. Maiorino, A. Roveri, J. Wissing and L. Flohé. 1999. Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science*, 285: 1393-1396.
48. Ursini, F., M. Maiorino and A. Roveri. 1997. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx): more than an antioxidant enzyme? *Biomedical environmental sciences: BES*, 10: 327-332.
49. Watson, P.F. 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science*, 60: 481-492.
50. Wu, S., J. Oldfield, P. Whanger and P. Weswig. 1973. Effect of selenium, vitamin E, and antioxidants on testicular function in rats. *Biology of Reproduction*, 8: 625-629.

## The Effect of Dietary Supplementation with Organic and Inorganic Selenium on Quality of Frozen-Thawed Semen in Broiler Breeder Cockerel under Oxidative Stress with Dexamethasone

Namdar Kamrani<sup>1</sup>, Amir Karimi<sup>2</sup>, Zabihullah Nemati<sup>3</sup> and Maghsoud Besharati<sup>3</sup>

1- M.Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Ahar Agriculture & Natural Resources, University of Tabriz

2- Department of Animal Science, Faculty of Ahar Agriculture & Natural Resources, University of Tabriz  
(Corresponding author: pekarimi@tabrizu.ac.ir)

3- Associate Professor, Faculty of Ahar Agriculture & Natural Resources, University of Tabriz

Received: April 5, 2020

Accepted: May 13, 2020

### Abstract

The present study was performed to investigate the effects of dietary organic and inorganic selenium on the quality of frozen-thawed semen of broiler breeder cockerel under oxidative stress. In this experiment, a total of 24, 28-week-old Ross 308 cockerels were allocated into 4 treatments each of which had 6 birds, in a completely randomized design. Experimental groups were: 1) control group (CON): basal diet without selenium supplementation or dexamethasone administration, 2) DEX group: birds consumed the basal diet with dexamethasone injection (4 mg/Kg body weight, three times, every other day for 1 week), 3) DEX<sub>(OSe)</sub> group: addition of 0.3 mg selenium per kilogram of diet from selenomethionine as organic selenium to the basal diet of birds administrated dexamethasone like group 2 and 4) DEX<sub>(ISe)</sub> group: similar to group 3 but selenite sodium as an inorganic source was added to the diet. After semen collection, the semen was frozen by modified Beltsville extender. Sperm evaluation was carried out by the Computer-Assisted Sperm Analysis system (CASA) in thawed semen. Results showed that the addition of organic selenium to the diet of stressed birds (DEX<sub>(OSe)</sub>) improved total and progressive motility versus other experimental groups ( $P < 0.05$ ); although, DEX<sub>(OSe)</sub> was not statistically different with CON in progressive motility ( $P > 0.05$ ). Also, the addition of inorganic selenium in the diet of stressed birds (DEX<sub>(ISe)</sub>) did not improve the mentioned parameters versus DEX ( $P > 0.05$ ). On the other hand, not only the viability and membrane integrity of sperm but also biochemical parameters (glutathione peroxidase and superoxide dismutase) of DEX<sub>(OSe)</sub> were higher than other experimental groups ( $P < 0.05$ ). It seems, the addition of organic selenium in the diet of cockerel under physiologic stress results in higher sperm quality than inorganic selenium.

**Keywords:** Frozen-thawed semen, Inorganic Selenium, Organic Selenium, physiological Stress