

## Research Paper

# The Influence of Different Sources of Oral Selenium Supplementation on the Total Antioxidant Capacity (TAC), Glutathione Peroxidase (GPx) Activity and Lipid Peroxidation of Semen in Aged Broiler Breeder Roosters

Morteza Asghari Moghadam<sup>1</sup>, Seyed Raza Hashemi<sup>2</sup> , Mehran Mehri<sup>3</sup>, Amir Karamzadeh Dehaghani<sup>4</sup> and Homa Davoodi<sup>5</sup>

- 1- Ph.D. Student, Department of Animal Physiology, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran  
2- Associate Professor, Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran (Corresponding Author: hashemi711@yahoo.co.uk)  
3- Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran.  
4- Ph.D. Graduated of Animal Physiology, Department of Animal Science, University of Tehran, Tehran, Iran.  
5- Associate Professor, Department of Immunology, Faculty of Medical Science, Golestan University of Medical Science, Gorgan, Iran

Received: 3 May, 2023

Accepted: 7 September, 2023

### Extended Abstract

**Background:** Supplementation of elements such as selenium in the diet is one way to improve fertility. The effects of selenium supplementation vary and are strongly influenced by the source and amount of dietary selenium. Therefore, the present study was conducted to investigate the influence of different sources of oral selenium supplementation on total antioxidant capacity (TAC), glutathione peroxidase (GPx) activity, and lipid peroxidation of semen in aged broiler breeder roosters.

**Methods:** This research was carried out using 120 broiler roosters aged 45 weeks in a completely randomized design with 10 treatments, 4 replicates, and 3 birds in each replicate. The experimental treatments included a control diet based on the standard nutritional requirements of roosters, along with the addition of the following sources of selenium to the basic diet at levels of 0.0, 0.15, 0.30, and 0.45 mg/kg: sodium selenite, organic selenium, and selenium nano-bio-chelate. After two weeks of feeding with the basal diet, the roosters received the experimental treatments for 40 days, starting at 47 weeks of age. Semen was collected by abdominal massage from the roosters every 10 days, and then total antioxidant capacity, glutathione peroxidase activity, semen lipid peroxidation, and plasma testosterone concentration were measured at the beginning and end of the experiment. Data analysis was conducted using the GLM procedure of SAS 9.4 software (2012).

**Results:** Higher levels of selenium (0.30 and 0.45 mg/kg) improved TAC and GPx activity while decreasing lipid peroxidation compared to the control group. Additionally, the level of 0.30 mg/kg selenium from Celemax and BondaSel sources resulted in the highest glutathione peroxidase activity compared to other treatments ( $P \leq 0.05$ ). The highest lipid peroxidation was observed in the control and 0.15 mg/kg sodium selenite groups. The highest total antioxidant capacity and glutathione peroxidase enzyme activity were observed on day 20 of the experiment in the group receiving 0.30 mg/kg Celemax and on day 10 in the 0.30 mg/kg sodium selenite group, respectively. The lowest lipid peroxidation on day 20 was associated with the 0.30 mg/kg BondaSel group. Testosterone concentration in the 0.30 mg/kg Celemax group was significantly higher than in the control and 0.15 mg/kg Celemax groups, but no differences were observed among the other treatments.

**Conclusion:** The results indicate that dietary supplementation of 0.30 mg/kg of selenium from organic sources (Celemax and BondaSel) improves the reproductive performance of aged roosters.

**Keywords:** Broiler breeder roosters, Glutathione peroxidase, Reproductive performance, Selenium nano-bio-chelate

**How to Cite This Article:** Asghari Moghadam, M., Hashemi, R., Mehri, M., Karamzadeh Dehaghani, A., & Davoodi, H. (2023). The Influence of Different Sources of Oral Selenium Supplementation on the Total Antioxidant Capacity (TAC), Glutathione Peroxidase (GPx) Activity and Lipid Peroxidation of Semen in Aged Broiler Breeder Roosters. *Res Anim Prod*, 14(4), 68 -77. <https://doi.org/10.61186/rap.14.42.68>



## مقاله پژوهشی

## تأثیر مکمل‌سازی خوراکی منابع مختلف سلیوم بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز و پراکسیداسیون لیپیدی منی در خروس‌های مادر گوشتی مسن

مرتضی اصغری مقدم<sup>۱</sup>، سیدرضا هاشمی<sup>۲</sup>، مه‌رمان مهری<sup>۳</sup>، امیرکرم زاده دهقانی<sup>۴</sup> و هما داوودی<sup>۵</sup>

- ۱- دانشجوی دکتری دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران  
۲- دانشیار دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، (نویسنده مسؤل: hashemi711@yahoo.co.uk)  
۳- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران  
۴- دانش‌آموخته دکتری فیزیولوژی دام و طیور، دانشگاه تهران، تهران، ایران  
۵- دانشیار گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۱۳  
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۶  
صفحه: ۶۸ تا ۷۷

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** یکی از روش‌های بهبود در باروری، مکمل‌سازی عناصری نظیر سلیوم به جیره است. اثرات مکمل‌سازی سلیوم متفاوت است و شدیداً تحت تأثیر منبع و مقدار سلیوم جیره قرار می‌گیرد لذا پژوهش حاضر به منظور تأثیر مکمل‌سازی خوراکی منابع مختلف سلیوم بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز و پراکسیداسیون لیپیدی منی در خروس‌های مادر گوشتی مسن انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این پژوهش با استفاده از ۱۲۰ قطعه خروس مادر گوشتی راس ۳۰۸ با سن ۴۵ هفته در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار، ۴ تکرار و ۳ پرند در هر تکرار اجرا شد. علاوه بر جیره شاهد تنظیم شده بر اساس جدول استاندارد احتیاجات غذایی خروس مادر گوشتی سه منبع مختلف سلیوم شامل سلنیت سدیم، سلیوم آلی و نانو بایوکیلات سلیوم، هر کدام در سه سطح صفر، ۰/۱۵، ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم به جیره پایه خروس‌های تیماری افزوده شدند. بعد از دو هفته تغذیه با جیره پایه، خروس‌ها به مدت ۴۰ روز و از ابتدای سن ۴۷ هفته تیمارهای آزمایشی را دریافت کردند. هر ۱۰ روز یکبار اسپرم‌گیری به روش مالش شکمی از خروس‌ها صورت گرفت و سپس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز، پراکسیداسیون لیپیدی منی و غلظت تستوسترون پلاسمای خون در ابتدا و انتهای آزمایش اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از رویه GLM و نرم‌افزار SAS 9.4 (۲۰۱۲) انجام شد.

**یافته‌ها:** بر اساس نتایج به دست آمده، سطوح ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلیوم از منابع مختلف، موجب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و میزان فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز نسبت به گروه شاهد شد. همچنین سطح ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلیوم از منابع سلمکس و نانوبایوکیلات سلیوم بیشترین میزان فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز را نسبت به سایر سطوح سلیوم از منابع مختلف موجب شدند ( $p \leq 0.05$ ). بیشترین مقدار پراکسیداسیون لیپید در گروه‌های شاهد و ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم مشاهده شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در روز ۲۰ آزمایش در گروه‌های دریافت‌کننده ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس و فعالیت آنزیم گلوکوتایون پراکسیداز در روز ۱۰ آزمایش، گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم بیشترین فعالیت را نشان داد. کمترین مقدار پراکسیداسیون لیپید در روز ۲۰ آزمایش مربوط به گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوبایوکیلات سلیوم بود. میزان تستوسترون در گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس و نانوبایوکیلات سلیوم نسبت به گروه‌های شاهد و ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس به‌طور معنی‌داری بیشتر بود، ولی بین سایر تیمارها تفاوتی مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که شکل آلی سلیوم (منابع سلمکس و نانوبایوکیلات سلیوم) نسبت به شکل معدنی (سلنیت سدیم)، در سطح ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به جیره باعث بهبود عملکرد تولیدمثلی خروس‌های مسن می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** خروس‌های مادر گوشتی، عملکرد تولید مثل، گلوکوتایون پراکسیداز، نانوبایوکیلات سلیوم

## مقدمه

میتوکندری، کاهش واکنش آکروزومی و آسیب به پروتئین‌ها، توانایی باروری اسپرم را کاهش دهد (Mehaisen et al., 2020). از سوی دیگر، افزایش تنش اکسیداتیو از طریق کاهش تولید تستوسترون، تشکیل سلول‌های سرتولی و برهم‌زدن سد خونی بیضه‌ای، فرایند اسپرم‌سازی را مختل کرده و در نهایت موجب کاهش شمار اسپرم‌های اپیدیمی و باروری می‌شود (Gholami- Ahangaran et al., 2021). بنابراین، به‌کارگیری راهکارهای افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به منظور کاهش تنش اکسیداتیو، بهبود اسپرم‌سازی، جلوگیری از آسیب به اسپرم و افزایش باروری خروس‌های مسن ضروری است. به نظر می‌رسد مکمل‌سازی سلیوم در جیره خروس‌ها، روند کاهش باروری در اثر افزایش سن را کاهش دهد. در طبیعت سلیوم به دو شکل آلی و معدنی وجود دارد. سلیوم معدنی در سه حالت اکسید شده شامل سلنیت ( $Se^{4+}$ )، سلنات ( $Se^{6+}$ )، و سلنید ( $Se^{2-}$ ) وجود دارد (Ahsan et al., 2014). استفاده از شکل معدنی سلیوم

تغذیه تأثیر زیادی بر کیفیت و کمیت اسپرم دارد و از این رو غنی‌سازی جیره با ترکیباتی چندعملکردی نظیر سلیوم یکی از راهکارهای مقابله با کاهش باروری در خروس‌های مسن است (Alavi et al., 2020). سلیوم به عنوان جزئی از آنزیم‌هایی مانند گلوکوتایون پراکسیدازها و سلنوپروتئین‌ها، نقش کلیدی در بسیاری از فرایندهای زیستی نظیر سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانی، باروری، متابولیسم تیروئید و کارکرد سیستم ایمنی دارد (Ahsan et al., 2014). سلیوم جزء اصلی جایگاه فعال گلوکوتایون پراکسیداز است که در تنظیم پراکسید هیدروژن و سطوح پراکسیدهای لیپیدی دخالت دارد (Behnamifar et al., 2021; Meyrick & Brigham, 1983). سلول اسپرم مقادیر زیادی اسیدهای چرب غیر اشباع در غشای خود دارد که باعث افزایش حساسیت این سلول‌ها به آسیب اکسیداتیو می‌شود (Raei et al., 2021). آسیب اکسیداتیو همچنین می‌تواند از طریق اختلال در عملکرد

خروس‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی به ۴۰ واحد آزمایشی بر روی بستر (۱۰ تیمار، ۴ تکرار و ۳ نمونه در هر واحد آزمایشی) منتقل شدند. طول مدت تیمار خوراکی ۶۰ روز بود و برنامه نوری نیز به صورت ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت خاموشی اعمال شد و دمای سالن در محدوده ۲۱ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. و سه منبع مختلف سلنیوم شامل سلنیوم معدنی (سلنیت سدیم)، سلنیوم آلی (سلمکس) و نانو بایوکیلات سلنیوم (بن‌داسل، توسعه بن دافراور، ایران) هر کدام در سه سطح صفر، ۰/۱۵، ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، به جیره افزوده شدند. تیمارهای آزمایشی بعد از دو هفته تغذیه با جیره پایه و عادت‌دهی خروس‌ها به شرایط جدید و اسپرم‌گیری به روش مالش شکمی، در سن ۴۷ هفتگی اعمال شدند. لازم به ذکر است که جیره پایه، فاقد مکمل سلنیوم بوده و سایر نیازهای غذایی مطابق جدول استاندارد احتیاجات غذایی خروس مادر گوشتی فرموله گردید (جدول ۱). برای تهیه تیمارهای آزمایشی، مقدار سلنیوم مورد نیاز از منابع مختلف، بر اساس مقدار جیره پایه مصرفی هر گروه در طول آزمایش محاسبه شد و در ابتدا در مقدار کمی خوراک مخلوط شد. این مقدار سپس در جیره پایه در میکسر مخلوط شد. تا از رسیدن به دوز مورد نظر و یکنواختی منبع سلنیوم در جیره اطمینان حاصل گردد. خروس‌ها به مدت ۴۰ روز و از ابتدای سن ۴۷ هفتگی تیمارهای آزمایشی را دریافت کردند. هر ۱۰ روز یکبار اسپرم‌گیری به روش مالش شکمی از خروس‌ها صورت گرفت. همچنین برای حذف اثرات فردی، منی جمع‌آوری شده از هر سه خروس مربوط به یک جایگاه با هم مخلوط و به عنوان یک نمونه در نظر گرفته شد (Akhlaghi et al., 2014). جهت رقیق کردن منی از رقیق کننده بلستویل تعدیل یافته با pH ۷/۴ و اسمولاریته ۳۱۰ mOsm/kg استفاده شد (Amini et al., 2015).

محدودیت‌های مختلفی دارد که از آن جمله می‌توان به پتانسیل سمیت، جذب ضعیف، برهمکنش با سایر مواد معدنی و اجزای جیره، و ناتوانی در تأمین و حفظ ذخایر سلنیوم در بدن اشاره نمود (Alavi et al., 2020). مطالعات اخیر نشان می‌دهند که سلنیوم آلی مانند سلنوامینواسیدها، زیست‌فراهمی بیشتری نسبت به سلنات سدیم دارند (Dalia et al., 2018). در حال حاضر، شکل نانو سلنیوم به علت زیست‌فراهمی بسیار بالاتر و سمیت کمتر نسبت به فرم‌های آلی و معدنی، جذابیت بیشتری پیدا کرده است. زیرا این ذرات نانومتری دارای ویژگی‌های منحصر به فردی از جمله کارایی کاتالیکی بالا، توانایی جذب قوی و سمیت پایین هستند. همچنین، از آنجا که با کاهش اندازه ذرات، نسبت سطح به حجم افزایش می‌یابد، نانوذرات سلنیوم از فعالیت بیولوژیکی بالاتری به عنوان ضد رادیکال‌هیدروکسیل برخوردار بوده و در محافظت علیه اکسیداسیون DNA موثرتر عمل می‌نمایند (Alavi et al., 2020). بنابراین احتمال می‌رود که نانو سلنیوم کارایی بیشتری نسبت به دو شکل دیگر سلنیوم در جلوگیری از کاهش باروری خروس‌های مسن داشته باشد و نیازمند بررسی است. یکی از راهکارها برای بهبود باروری، مکمل‌سازی عناصری نظیر سلنیوم به جیره است (Dalggaard et al., 2018; Dalia et al., 2018). لذا پژوهش حاضر به منظور تأثیر مکمل سازی خوراکی منابع مختلف سلنیوم بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز و پراکسیداسیون لیپیدی منی در خروس‌های مادر گوشتی مسن انجام شد.

### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر با استفاده از ۱۲۰ قطعه خروس مادر گوشتی راس ۳۰۸ با وزن  $92/99 \pm 5187/17$  گرم و سن ۴۵ هفته در مزرعه آموزشی و تحقیقاتی دانشگاه زابل انجام شد.

## جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره پایه

مقدار (%) (%) Amount	مواد خوراکی Food Ingredients
65.42	ذرت Corn
6.50	کنجاله سویا Soybean meal
23.80	سبوس گندم Wheat bran
1.00	روغن ذرت Corn Oil
1.30	دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate
0.94	صدف Mineral oyster shall
0.10	چوش شیرین NaHCO <sub>3</sub>
0.32	نمک طعام Salt
0.25	مکمل معدنی ۱ Complete Mineral 1
0.25	مکمل ویتامینی ۲ Vitamin supplements
0.12	دی-ال-متیونین (۹۹٪) D-Ly-methinoine (99%)
100	مجموع Total
	ترکیب مواد مغذی Nutrient Composition
2700	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم) AME (kcal/kg)
11.54	پروتئین خام % (%) CP
0.73	کلسیم % Calcium %
0.34	فسفر قابل دسترس % Available phosphorus %
0.17	سدیم % Sodium %
0.31	متیونین % Metunin %

۱- مکمل معدنی مقادیر زیر را در هر کیلوگرم خوراک تأمین کرد: منگنز (منگنز اکسید) ۱۲۰ میلی‌گرم، آهن (سولفات آهن) ۵۰ میلی‌گرم، مس (سولفات مس) ۱۰ میلی‌گرم، ید (پتاسیم یدات) ۲ میلی‌گرم، روی (اکسید روی) ۱۱۰ میلی‌گرم

۲- مکمل ویتامینی مقادیر زیر را در هر کیلوگرم خوراک تأمین کرد: ویتامین A (ویتامین A استات) ۱۲۰۰۰ IU، ویتامین D<sub>3</sub> ۳۵۰۰ IU، ویتامین E (دی‌ال-آلفا-توکوفرول استات) ۱۰۰ IU، ریوفلاوین ۱۲ میلی‌گرم، پنتوتینیک اسید ۱۳ میلی‌گرم، پیریدوکسین (پیریدوکسین هیدروکلراید) ۶ میلی‌گرم، فولیک اسید ۲ میلی‌گرم، کوبالامین ۰/۰۳ میلی‌گرم، بیوتین ۰/۶۶ میلی‌گرم.

1 -The mineral supplement provided the following amounts per kilogram of feed: manganese (manganese oxide) 120 mg, iron (iron sulfate) 50 mg, copper (copper sulfate) 10 mg, iodine (potassium iodate) 2 mg, zinc (zinc oxide) 110 mg

2- The vitamin supplement provided the following amounts per kilogram of feed: vitamin A (vitamin A acetate) 12000 IU, vitamin D<sub>3</sub> 3500 IU, vitamin E (D-L-alpha-tocopherol acetate) 100 IU, riboflavin 12 mg, niacin 50 mg, pantothenic acid 13 mg, pyridoxine (pyridoxine hydrochloride) 6 mg, folic acid 2 mg, cobalamin 0.03 mg, biotin 0.66 mg.

## جدول ۲- اجزای تشکیل‌دهنده رقیق‌کننده بلتسویل بهبود یافته

مقدار Amount	ترکیب شیمیایی Chemical Composition
7.59 g/l	دی پتاسیم فسفات Potassium phosphate dibasic
8.67g/l	سدیم گلوتمات Sodium glutamate
5g/l	فروکتوز Fructose
3.2g/l	سدیم استات Sodium acetate
3.2g/l	تریس Tris
0.64g/l	پتاسیم سیترات Potassium citrate
0.70 g/L	مونو پتاسیم فسفات Mono-potassium phosphate
0.34g/l	کلراید منیزیم Magnesium Chloride
0.03	گلیسرول Glycerol
0.5	لستین lecithin

۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، بلافاصله قسمت بالایی مایع منی برداشته و تا زمان بررسی در دمای ۲۰-

به‌منظور بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و گلوٹاتینون پراکسیداز در پلاسماهای منی، منی با نیروی  $\times g$  ۱۵۰۰ به مدت

مابع رویی در طول موج ۵۵۰ نانومتر قرائت شد. از نمونه استاندارد موجود در کیت برای رسم منحنی استاندارد و مطابق روش بالا، استفاده شد. نتایج میزان MDA به صورت nmol/ml بیان شد. خون‌گیری و اندازه‌گیری سطح تستوسترون در ابتدا و انتهای آزمایش صورت گرفت؛ به طوری که، از هر تکرار دو خروس به طور تصادفی انتخاب و از طریق سیاهرگ بال، خون‌گیری صورت گرفت. نمونه‌های خون به لوله‌های ونوجکت حاوی ماده ضد انعقاد هپارین منتقل و در طول مدت خون‌گیری در ظرف حاوی یخ قرار داده شدند. بلافاصله پس از اتمام خون‌گیری، پلاسما به کمک سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جدا گردید. نمونه‌های پلاسما تا زمان بررسی سطح تستوسترون در دمای ۲۰- درجه سلسیوس در داخل میکروتیوب‌ها نگهداری شدند. غلظت سرمی تستوسترون خروس‌ها با استفاده از کیت تجاری الایزا مونوباند آمریکا و طبق راهنمای کیت مورد ارزیابی قرار گرفت (Sharideh et al., 2020). به طور خلاصه، ۱۰ میکرولیتر از نمونه سرم و استاندارد داخل چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه ریخته شد. سپس، ۵۰ میکرولیتر از محلول آماده Testosterone Enzyme Regant به همه چاهک‌ها افزوده و به مدت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه پلیت به آرامی تکان داده شد. ۵۰ میکرولیتر از محلول Testosterone Biotin Regant نیز به چاهک‌ها اضافه شد و دوباره پلیت به آرامی تکان داده شد تا محلول‌ها به خوبی مخلوط شوند. روی پلیت پوشیده شد و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق برای انکوباسیون قرار گرفت. در ادامه محتویات چاهک‌های پلیت از طریق آسپیره کردن دور ریخته شد و ۲۵۰ میکرولیتر محلول شستشو اضافه و سپس تخلیه شد (برای ۳ مرتبه). پس از اتمام شستشو، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول working substrate به تمام چاهک‌ها اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. برای خاتمه دادن به واکنش، ۵۰ میکرولیتر از محلول Stop Solution به هر چاهک اضافه و به آرامی به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه مخلوط شد. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر در دستگاه پلیتریدر قرائت و نتایج به صورت ng/ml بیان شد. آزمایش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با چند نمونه در هر واحد آزمایشی ۱۰ تیمار با ۴ تکرار و ۳ پرنده در داخل هر تکرار اجرا شد. تجزیه و تحلیل داده‌های پیوسته با استفاده از رویه GLM و نرم افزار SAS 9.4 (۲۰۱۲) انجام شد. میانگین‌ها به صورت میانگین حداقل مربعات (LSmeans) گزارش شده و توسط آزمون توکی در سطح معنی داری ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند. P مساوی یا کوچکتر از ۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. مدل آماری جهت آنالیز داده‌های پژوهش به صورت زیر می‌باشد:

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

که در آن  $y_{ij}$ ، هر مشاهده از فراسنجه مورد اندازه‌گیری؛  $\mu$ ، میانگین جامعه؛  $T_i$ ، اثر تیمار و  $e_{ij}$ ، اثر باقی‌مانده یا اشتباه آزمایشی است.

درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بر اساس روش FRAP<sup>۱</sup> (توانایی احیاء‌کنندگی آهن فریک توسط قدرت آنتی‌اکسیدانی) و فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز بر اساس روش نشانگر مقدار NADPH مصرف شده در مابع منی با استفاده از کیت‌های تجاری نوند سلامت و مطابق دستورالعمل سازنده و با کمک دستگاه الایزا ریدر (Model ELx800; Bio Tek Instruments, USA340-750nm) مورد ارزیابی و سنجش قرار گرفتند (Sharideh et al., 2020). به طور خلاصه، برای بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، ۵ میکرولیتر از نمونه پلاسما منی یا استاندارد آماده شده را در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه ریخته شد (از هر نمونه دو تکرار) و سپس به همه چاهک‌های حاوی نمونه و یا استاندارد، محلول کار آماده شده را اضافه و جذب نوری نمونه‌ها، پس از ۵ دقیقه، در طول موج ۵۹۳ نانومتر قرائت شد. نتایج ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل به صورت nmol/L بیان شد. برای بررسی فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز، ۵۰ میکرولیتر نمونه پلاسما منی یا استاندارد آماده شده (از هر نمونه دو تکرار) درون چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه ریخته شد. در ادامه، با افزودن ۴۰ میکرولیتر محلول آماده به کار Reagent 1 به همه چاهک‌ها، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. برای شروع واکنش و ارزیابی فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز، ۱۰ میکرولیتر محلول آماده به کار Reagent 2 افزوده و به خوبی مخلوط شد. سپس، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر در زمان صفر و پس از انکوباسیون در دمای اتاق به مدت ۵ دقیقه قرائت شد. نتایج میزان فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز به صورت mU/mL بیان شد. برای سنجش پراکسیداسیون لیپید از کیت Nalondi شرکت نوند سلامت استفاده شد که روشی تکرارپذیر و استاندارد برای اندازه‌گیری میزان MDA و آگاهی از پراکسیداسیون لیپید در نمونه‌های بیولوژیکی است (Shakouri et al., 2021). در این روش، MDA با تیوباریتیوریک اسید (TBA) در دمای بالا، واکنش داده و محصول صورتی رنگی تولید می‌کند که با روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری می‌شود. بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده، یک میلی‌لیتر پلاسما منی را داخل لوله آزمایش ریخته و سپس مقدار ۳۰۰ میکرولیتر Lysis Buffer و ۳ میکرولیتر BHT (Butylated hydroxytoluene) اضافه و هموژن شد. برای حذف مواد نامحلول، مخلوط حاصل به مدت سه دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد و از مابع رویی به عنوان نمونه استفاده شد. برای سنجش میزان MDA، ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه‌ها آماده شده را با ۸۰۰ میکرولیتر محلول آماده به کار مخلوط شد. سپس درب لوله‌ها کامل بسته و درون بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شد. در مرحله بعد، نمونه‌ها را به مدت ۱۰ دقیقه درون ظرف حاوی آب یخ قرار داده شد تا سریع سرد شوند. در ادامه، نمونه‌ها در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و ۲۵۰ میکرولیتر از مابع رویی به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه منتقل شد و جذب

## نتایج و بحث

سلیوم به عنوان جزیی ضروری در سلنوپروتئین‌ها، نقش‌های ساختاری و آنزیمی را انجام می‌دهد. در خصوص نقش آنزیمی سلیوم، اعمال کاتالیزوری و آنتی‌اکسیدانی آن به خوبی شناخته شده است (Qazi et al., 2019). بر اساس نتایج به دست آمده، سطوح ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلیوم از منابع مختلف، موجب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نسبت به گروه شاهد شد و بیشترین میزان این فراسنجه مربوط به گروه‌های دریافت کننده سلمکس و بن‌داسل بود (۰/۰۵ ≤ P جدول ۳). گزارش شده است تغذیه خروس‌ها با جیره کمبود سلیوم موجب کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (گلوکاتایون S ترانس‌فراز و گلوکاتایون پراکسیداز) می‌شود (Li et al., 2020)؛ در مطالعه ما، مکمل‌سازی سلیوم معدنی و آلی، به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم گلوکاتایون پرواکسیداز را بهبود بخشید؛ با این حال تاثیر شکل آلی بیشتر از شکل معدنی بود. بسیاری از سلنوپروتئین‌هایی که دارای دومین‌هایی تیوردوکسین هستند نقش آنتی‌اکسیدانی دارند (Qazi et al., 2019) میزان فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز در سطوح ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلیوم از منابع سلنیت سدیم و سلمکس و در تمامی سطوح بن‌داسل، نسبت به گروه‌های شاهد و سطح ۰/۱۵ mg/kg سلیوم از منابع سلنیت سدیم و سلمکس بیشتر بود. همچنین سطح mg/kg ۰/۳۰ سلیوم از منابع سلمکس و بن‌داسل بیشترین میزان فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز را نسبت به سایر سطوح سلیوم از منابع مختلف را نشان داد (۰/۰۵ ≤ P جدول ۳). در پژوهشی، افزایش در فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز با تغذیه شکل آلی سلیوم، نسبت به شکل معدنی، در خروس‌ها مشاهده نشد (Maysa et al., 2009). با این حال، هیچ‌گونه تفاوتی در گلوکاتایون پراکسیداز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل خروس‌های نژاد *Lingnan yellow* با افزودن منابع آلی و معدنی سلیوم مشاهده نشد (Li et al., 2018). دلیل این تفاوت‌ها احتمالاً می‌تواند ناشی از سویه‌ها یا سن پرنده و شرایط آزمایشی باشد (Ashraf et al., 2020). مالون‌دی‌آلدئید (MDA) محصول نهایی پایداری پراکسیداسیون اسیدهای چرب است و لذا می‌تواند به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپید در نظر گرفته شود. که ارتباط منفی با باروری اسپرم دارد. در پژوهش حاضر، بیشترین مقدار پراکسیداسیون لیپید در گروه‌های شاهد و ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم مشاهده شد. با افزایش سطح سلنیت سدیم و یا استفاده از منابع آلی، میزان پراکسیداسیون لیپیدی به طور معنی‌داری کاهش یافت، به طوری که کمترین میزان این فراسنجه مربوط به گروه‌های

دریافت کننده ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلیوم از منابع سلمکس و بن‌داسل بود (۰/۰۵ ≤ P؛ جدول ۳). پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع (PUFA) در غشاهای سلولی اسپرم می‌تواند موجب افزایش MDA و اختلال در عملکرد سلول از طریق از دست دادن یکپارچگی و عملکرد غشا شود. لذا کاهش پراکسیداسیون لیپید به واسطه مکمل‌سازی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی برای بهبود باروری ضروری است. گزارش شده است که میزان MDA پلاسمای منی با فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل رابطه منفی دارد (Namazi Zadegan et al., 2022). در مطالعات دیگر نیز کاهش مDA پلاسمای منی با افزودن سلیوم به جیره خروس‌ها مشاهده شده است (Chauychu- Noo et al., 2021; Kamrani et al., 2021; Khalil-Khalili et al., 2021; Namazi Zadegan et al., 2022; Shi et al., 2014). در رابطه با غلظت تستوسترون نتایج نشان داد که میزان تستوسترون در خروس‌های دریافت کننده ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلیوم از منابع سلمکس و بن‌داسل، بیشتر از گروه شاهد و خروس‌های گروه‌های دریافت کننده ۰/۱۵ و ۰/۴۵ میلی‌گرم سلنیت سدیم و ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس بود. بین سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (۰/۰۵ > P؛ جدول ۳). به تازگی گزارش شده است که تغذیه خروس‌ها با جیره کم‌سلیوم موجب کاهش هورمون‌های جنسی (تستوسترون و استرادیول) و کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (گلوکاتایون S ترانس‌فراز و گلوکاتایون پراکسیداز) می‌شود. محققین این مطالعه، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و اختلال در ساخت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی را مسئول این مشاهدات بیان کردند که با نتایج ما مطابقت دارد (Li et al., 2020). در پژوهش حاضر، مکمل‌سازی سلنیت سدیم، سلمکس و بن‌داسل به ترتیب موجب افزایش غلظت تستوسترون به مقدار ۸/۳، ۸/۸ و ۹/۹ درصد شد و گروه شاهد غلظت کمتری از تستوسترون را نسبت به گروه ۰/۳۰ mg/kg سلمکس و بن‌داسل نشان داد. این تغییرات در روز ۴۰ آزمایش صورت گرفت. که با یافته‌های مطالعه قبلی مطابقت دارد (Khalil-Khalili et al., 2021). ریزمغذی سلیوم احتمالاً از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش رادیکال‌های آزاد، همانطور که در نتایج این مطالعه نشان داده شد، باعث بهبود تولید تستوسترون و اسپرم‌سازی شده است. همچنین، گزارش شده است که مکمل‌سازی سلیوم اثرات مثبتی بر تکوین سلول‌های سمینی‌فروس دارد و موجب افزایش زنده‌مانی سلول‌های سرتولی و کاهش آپوپتوز سلول‌های زا‌یا می‌گردد که برآیند این اثرات بهبود تولید اسپرم است (Huang et al., 2016; Khalid et al., 2016; Sharpe et al., 2003

تأثیر مکمل سازی خوراکی منابع مختلف سلنیوم بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و پراکسیداسیون لیپیدی ..... ۷۴

جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف سلنیت سدیم، سلمکس و بن‌داسل بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و پراکسیداسیون لیپید در منی و غلظت تستوسترون در خون (Lsmeans ± SEM).

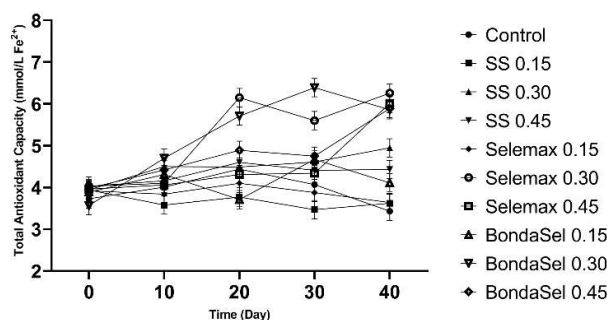
Table 3. The effect of different levels of sodium selenite, Selmax and Bendacel on total antioxidant capacity, glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation in semen and testosterone concentration in blood (Lsmeans ± SEM)

تستوسترون (ng/mL)	MDA (nmol/mL)	GPx (mU/mL)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (mmol/L Fe <sup>2+</sup> )	تیمار Treatment
3.77bc	2.92a	27.68c	3.94 <sup>abg</sup>	شاهد
3.62bc	2.89a	27.64c	3.68 <sup>g</sup>	سلنیت سدیم
4.11abc	2.52cd	33.60b	4.50cd	Sodiumselenite
3.86bc	2.59b	33.92b	4.33de	
3.50c	2.73ab	29.03c	3.88fg	سلمکس
4.48a	2.09e	36.29a	5.23ab	Selmax
4.17ab	2.37cd	32.86b	4.54cd	
4.23ab	2.57bc	32.15b	4.15def	بن‌داسل
4.52a	1.83f	36.78a	5.25a	Bendacel
4.60abc	2.34d	32.54b	4.79bc	
0.14	0.05	0.51	0.10	SEM
<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	P-Value

a-g میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ( $P \leq 0.05$ ). a-g different superscripts in the same column show significant differences ( $P \leq 0.05$ )

سلنیوم از منابع سلمکس و بن‌داسل در خصوص ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل وجود نداشت، اما با سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (شکل ۱). همچنین در این روز، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم نسبت به گروه‌های شاهد و دریافت کننده ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلنیت سدیم و سلمکس بیشتر بود (شکل ۱). افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل با افزودن سلنیوم از منابع آلی و معدنی در پژوهش حاضر، می‌تواند باعث بهبود عملکرد سلنوپروتئین‌ها شود. علاوه بر این، گزارش شده است که سلنیوم می‌تواند عملکرد سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز را افزایش دهد. همسو با نتایج پژوهش حاضر، بهبودی در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز با افزودن سلنیوم به جیره خروس‌ها مشاهده شده است (AlKaabi & Ali, 2021; Ashraf et al., 2020; Kamrani et al., 2021; Khalil-Khalili et al., 2021; Shamiah et al., 2017).

با توجه به شکل ۱ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در روز ۲۰ و گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس به طور معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها، و در گروه‌های ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بن‌داسل نسبت به گروه‌های شاهد و دریافت کننده ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع مختلف و همچنین ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس بیشتر بود ( $P \leq 0.05$ ; شکل ۱). در صورتی که بیشترین مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در روز ۳۰ آزمایش مربوط به گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بن‌داسل بود که با سایر گروه‌ها، بجز گروه دریافت کننده ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس، اختلاف معنی‌داری داشت ( $P \leq 0.05$ ; شکل ۱). کمترین مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در این روز، مربوط به گروه ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم بود که نسبت به گروه‌های ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس و ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بن‌داسل اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۱). در روز ۴۰ آزمایش، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های دریافت کننده ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم



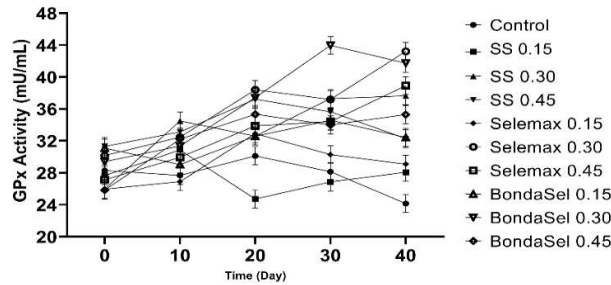
شکل ۱- نمودار تأثیر سطوح مختلف سلنیت سدیم، سلمکس و بن‌داسل بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل پلاسمای منی در زمان‌های مختلف  
Figure 1. Diagram of the effect of different levels of sodium selenite, Selmax and Bendacel on the antioxidant capacity of the whole seminal plasma at different times

۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم و دریافت کننده ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلمکس و بن‌داسل نسبت به گروه‌های شاهد و ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم در روز ۲۰ آزمایش بیشترین فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را نشان دادند ( $P \leq 0.05$ ; شکل ۲). با این

در خصوص فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در روز ۱۰ آزمایش، گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم بیشترین فعالیت را نسبت به گروه‌های شاهد و ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس نشان داد، در صورتی که بین سایر گروه‌ها تفاوتی معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲). گروه‌های

حال، در روز ۳۰ آزمایش، گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بن‌داسل نسبت به سایر گروه‌ها، و گروه‌های دریافت‌کننده ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلنیت سدیم و سلمکس، نسبت به گروه‌های شاهد و دریافت‌کننده ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلنیت سدیم و سلپلکس، بیشترین فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را نشان دادند ( $P \leq 0.05$ ; شکل ۲). بیشترین فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در روز ۴۰ آزمایش مربوط به گروه‌های دریافت‌کننده ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلمکس و بن‌داسل بود

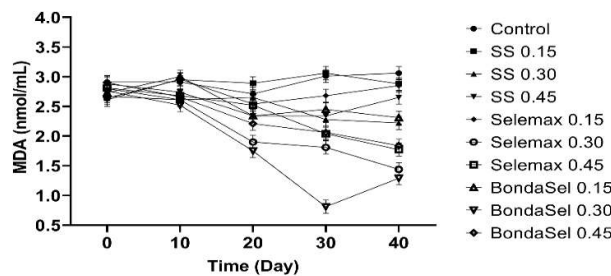
که اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها، بجز گروه‌های ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم و ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس، داشت (شکل ۲). کمترین مقدار فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در روز ۴۰ آزمایش مربوط به گروه شاهد بود اما اختلاف میانگین آن با گروه‌های دریافت‌کننده ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلنیت سدیم و سلمکس، معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ; شکل ۲).



شکل ۲- نمودار تاثیر سطوح مختلف سلنیت سدیم، سلمکس و بن‌داسل بر فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز پلاسمای منی در زمان‌های مختلف  
Figure 2. Diagram of the effect of different levels of sodium selenite, Selmax and Bendacel on glutathione peroxidase activity of seminal plasma at different times

و ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سدیم کمتر بود. در روز ۴۰ آزمایش مشاهده شد که گروه‌های دریافت‌کننده ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلمکس و بن‌داسل کمترین میزان پراکسیداسیون لیپید را نسبت به سایر گروه‌ها، بجز گروه‌های دریافت‌کننده ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلمکس و بن‌داسل دارند. همچنین گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم و ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم پراکسیداسیون کمتری در روز ۴۰ آزمایش داشتند (شکل ۳). نتایج این پژوهش نیز نشان داد که مکمل‌سازی سلنیوم موجب کاهش MDA منی (تقریباً ۱۳/۷، ۲۸/۴ و ۳۷/۳ درصد به ترتیب برای سلنیت سدیم، سلمکس و بن‌داسل) می‌شود که احتمالاً به دلیل افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز است. یافته‌هایی نشان دادند که مکمل‌سازی سلنیوم موجب کاهش پراکسیداسیون لیپید از طریق ویژگی آنتی‌اکسیدانی این ریزمغذی می‌شود (Namazi, Zadegan et al., 2022).

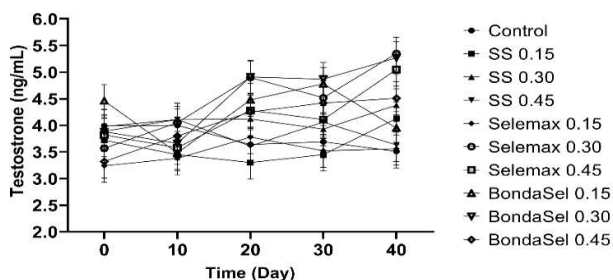
کمترین مقدار پراکسیداسیون لیپید در روز ۲۰ آزمایش مربوط به گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بن‌داسل بود که اختلاف معنی‌داری با گروه‌های شاهد، ۰/۱۵ و ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم و ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس داشت ( $P \leq 0.05$ ; شکل ۳). همچنین، میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس، نسبت به گروه‌های شاهد، ۰/۱۵ و ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم و ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس، کمترین میزان پراکسیداسیون لیپید را نشان داد. گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بن‌داسل نسبت به سایر گروه‌ها در روز ۳۰ آزمایش، کمترین میزان پراکسیداسیون لیپید را داشت. همچنین در این روز، گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس کمترین میزان پراکسیداسیون لیپید را نسبت به گروه‌های شاهد، ۰/۱۵ و ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم، ۰/۱۵ و ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بن‌داسل و ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس نشان داد. پراکسیداسیون لیپید نیز در گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم نسبت به گروه‌های شاهد



شکل ۳- نمودار تاثیر سطوح مختلف سلنیت سدیم، سلمکس و بن‌داسل بر مقدار پراکسیداسیون لیپید پلاسمای منی در زمان‌های مختلف  
Figure 3. Diagram of the effect of different levels of sodium selenite, Selmax and Bendacel on the amount of lipid peroxidation in seminal plasma at different times

تستوسترون با افزودن سلنیوم مشاهده کردند که همسو با نتایج این مطالعه است (AlKaabi & Ali, 2021; Ashraf et al., 2020; Chauychu-Noo et al., 2021; Ebeid, 2009; Hama, 2015; Hezarjaribi et al., 2016; Shamiyah et al., 2017).

در روز ۴۰ آزمایش، میزان تستوسترون در گروه ۰/۳۰ میلی گرم در کیلوگرم سلمکس نسبت به گروه‌های شاهد و ۰/۱۵ میلی گرم در کیلوگرم سلمکس به طور معنی داری بیشتر بود، ولی بین سایر تیمارها تفاوتی مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ) (شکل ۴). مطالعات گذشته نیز افزایشی در غلظت اسپرم و



شکل ۴- نمودار تاثیر سطوح مختلف سلنیت سدیم، سلمکس و بن داسل بر غلظت تستوسترون خون در زمان‌های مختلف  
Figure 4. Diagram of the effect of different levels of sodium selenite, Selmax and Bendacel on blood testosterone concentration at different times

افزودن سلنیوم در سطح ۰/۳۰ میلی گرم در کیلوگرم، بخصوص سلنیوم آلی، به جیره خروس‌های مسن با بهبود عملکرد تولیدمثلی همراه باشد.

#### تشکر و قدردانی

از شرکت توسعه بن دا فراور جهت حمایت از این پژوهش تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

#### تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع وجود ندارد.

#### نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که افزودن سلنیوم به جیره در سطح ۰/۳۰ میلی گرم در کیلوگرم صرف نظر از منبع آن، موجب بهبود فراسنجه‌های کیفیت منی شامل ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، فعالیت گلوکوتائین پراکسیداز پلاسمای منی، پراکسیداسیون لیپید می‌شود. با این حال، شکل آلی سلنیوم (منابع سلمکس و بن داسل) نسبت به شکل معدنی (سلنیت سدیم)، عملکرد بهتری در بهبود فراسنجه‌های مورد بررسی نشان داد. همچنین، بهبودی در غلظت هورمون تستوسترون با مکمل سازی سلنیوم از منابع آلی یافت شد. لذا به نظر می‌رسد

#### References

- Ahsan, U., Kamran, Z., Raza, I., Ahmad, S., Babar, W., Riaz, M. H., & Iqbal, Z. (2014). Role of selenium in male reproduction—A review. *Animal Reproduction Science*, 146(1-2), 55-62.
- Akhlaghi, A., Ahangari, Y. J., Navidshad, B., Pirsarazi, Z. A., Zhandi, M., Deldar, H., Rezvani, M. R., Dadpasand, M., Hashemi, S. R., & Poureslami, R. (2014). Improvements in semen quality, sperm fatty acids, and reproductive performance in aged Cobb 500 breeder roosters fed diets containing dried ginger rhizomes (*Zingiber officinale*). *Poultry Science*, 93(5), 1236-1244.
- Alavi, M. H., Allymehr, M., Talebi, A., & Najafi, G. (2020). Comparative effects of nano-selenium and sodium selenite supplementations on fertility in aged broiler breeder males. *Veterinary Research Forum*.
- AlKaabi, A. A. H., & Ali, E. A. (2021). Effect of dosing of broiler breeder roosters (Ross) with different Levels of nano-selenium particles and organic selenium on reproductive traits A Thesis Submitted. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 25(6), 3718-3726.
- Amini, M. R., Kohram, H., Zare Shahaneh, A., Zhandi, M., Sharideh, H., & Nabi, M. M. (2015). The effects of different levels of vitamin E and vitamin C in modified Beltsville extender on rooster post-thawed sperm quality. *Cell and Tissue Banking*, 16(4), 587-592.
- Ashraf, S., Bhatti, S. A., Nawaz, H., & Khan, M. S. (2020). Assessment of Dietary Selenium Sources in Commercial Male Broiler Breeders: Effects on Semen Quality, Antioxidant Status and Immune Responses. *Pakistan Veterinary Journal*, 40(1).
- Behnamifar, A., Rahimi, S., Torshizi, M. A. K., Sharafi, M., & Grimes, J. L. (2021). Effects of dietary alpha-lipoic acid supplementation on the seminal parameters and fertility potential in aging broiler breeder roosters. *Poultry Science*, 100(2), 1221-1238.
- Chauychu-Noo, N., Thananurak, P., Boonkum, W., Vongpralub, T., & Chankitisakul, V. (2021). Effect of organic selenium dietary supplementation on quality and fertility of cryopreserved chicken sperm. *Cryobiology*, 98, 57-62.
- Dalgaard, T. S., Briens, M., Engberg, R. M., & Lauridsen, C. (2018). The influence of selenium and selenoproteins on immune responses of poultry and pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 238, 73-83.
- Dalia, A. M., Loh, T. C., Sazili, A. Q., Jahromi, M. F., & Samsudin, A. A. (2018). Effects of vitamin E, inorganic selenium, bacterial organic selenium, and their combinations on immunity response in broiler chickens. *BMC Veterinary Research*, 14(1), 1-10.
- Ebeid, T. A. (2009). Organic selenium enhances the antioxidative status and quality of cockerel semen under high ambient temperature. *British Poultry Science*, 50(5), 641-647.
- Gholami-Ahangan, M., Karimi-Dehkordi, M., Akbari Javar, A., Haj Salehi, M., & Ostadpoor, M. (2021). A systematic review on the effect of Ginger (*Zingiber officinale*) on improvement of biological and fertility

- indices of sperm in laboratory animals, poultry and humans. *Veterinary Medicine and Science*, 7(5), 1959-1969.
- Hama, K. O. (2015). Effect of organic and inorganic sources of selenium on semen quality in roosters. *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences*, 5(9), 392-394.
- Hezarjaribi, A., Rezaei-pour, V., & Abdollahpour, R. (2016). Effects of intramuscular injections of vitamin E-selenium and a gonadotropin releasing hormone analogue (GnRH $\alpha$ ) on reproductive performance and blood metabolites of post-molt male broiler breeders. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(2), 156-160.
- Huang, Y., Li, W., Xu, D., Li, B., Tian, Y., & Zan, L. (2016). Effect of dietary selenium deficiency on the cell apoptosis and the level of thyroid hormones in chicken. *Biological Trace Element Research*, 171, 445-452.
- Kamrani, N., Karimi, A., Nazari, M., & Masoudi, R. (2021). Modulation of Negative Effects of Physiological Stress on Frozen-Thawed Semen with Nutrition of Organic Selenium in Ross 308 Rooster. *Archives of Razi Institute*, 76(6), 1787-1795.
- Khalid, A., Khudhair, N., He, H., Peng, Z., Yaguang, T., & Guixue, Z. (2016). Effects of dietary selenium supplementation on seminiferous tubules and SelW, GPx4, LHCGR, and ACE expression in chicken testis. *Biological Trace Element Research*, 173(1), 202-209.
- Khalil-Khalili, A. A., Zhandi, M., Zaghari, M., Mehrabani-Yeganeh, H., Yousefi, A. R., & Tavakoli-Alamooti, M. (2021). The effect of dietary organic selenium on reproductive performance of broiler breeder roosters under dexamethasone induced stress. *Theriogenology*, 161, 16-25.
- Li, K. X., Wang, J. S., Yuan, D., Zhao, R. X., Wang, Y. X., & Zhan, X. A. (2018). Effects of different selenium sources and levels on antioxidant status in broiler breeders. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(12), 1939.
- Li, M., Zhang, Y., & Li, S. (2020). Effects of selenium deficiency on testis development and autophagy in chicks. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1), 753-761.
- Maysa, M. H., El-Sheikh, A. M. H., & Abdalla, E. A. (2009). The effect of organic selenium supplementation on productive and physiological performance in a local strain of chicken. I-the effect of organic selenium (Sel-Plex<sup>TM</sup>) on productive, reproductive and physiological traits of Bandarrah local strain. *Egyptian Poultry Science Journal*, 29(4), 1061-1084.
- Mehaisen, G. M. K., Partyka, A., Ligocka, Z., & Nizański, W. (2020). Cryoprotective effect of melatonin supplementation on post-thawed rooster sperm quality. *Animal Reproduction Science*, 212, 106238.
- Meyrick, B., & Brigham, K. L. (1983). Acute effects of Escherichia coli endotoxin on the pulmonary microcirculation of anesthetized sheep structure: function relationships. *Laboratory Investigation; A Journal of Technical Methods and Pathology*, 48(4), 458-470.
- Namazi Zadegan, M. A., Kermanshahi, H., & Javadmanesh, A. (2022). Evaluation of Antioxidant Enzymes Activity, Lipid Peroxidation and Sperm Quality in Broiler Breeder Roosters Fed Whey Protein and Sodium Selenite. *Namazi Zadegan, Mohammad Amin*, 10(1).
- Qazi, I. H., Angel, C., Yang, H., Zoidis, E., Pan, B., Wu, Z., Ming, Z., Zeng, C.-J., Meng, Q., & Han, H. (2019). Role of selenium and selenoproteins in male reproductive function: a review of past and present evidences. *Antioxidants*, 8(8), 268.
- Raei, H., Torshizi, M. A. K., Sharafi, M., & Ahmadi, H. (2021). Improving seminal quality and reproductive performance in male broiler breeder by supplementation of camphor. *Theriogenology*, 166, 1-8.
- Shakouri, N., Soleimanzadeh, A., Rakhshanpour, A., & Bucak, M. N. (2021). Antioxidant effects of supplementation of 3, 4-dihydroxyphenyl glycol on sperm parameters and oxidative markers following cryopreservation in canine semen. *Reproduction in Domestic Animals*, 56(7), 1004-1014.
- Shamiah, S. M., El-Karim, A., Ragaa, E., Eshera, A. A. M., Fouda, S. F., & Zaghoul, H. K. (2017). Effects of Dietary Selenomethionine Supplementation on Semen Quality, Fertility and Antioxidant Status of Cockerels. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 20(2), 227-236.
- Sharideh, H., Zeinoaldini, S., Zhandi, M., Zaghari, M., Sadeghi, M., Akhlaghi, A., & Peebles, E. D. (2020). Use of supplemental dietary coenzyme Q10 to improve testicular function and fertilization capacity in aged broiler breeder roosters. *Theriogenology*, 142, 355-362.
- Sharpe, R. M., McKinnell, C., Kivlin, C., & Fisher, J. S. (2003). Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction*, 125(6), 769-784.
- Shi, L., Zhao, H., Ren, Y., Yao, X., Song, R., & Yue, W. (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(3-4), 266-272.