

## 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 مکمل سازی خوراکی منابع مختلف سلنیوم بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و پراکسیداسیون لیپیدی منی در خروس‌های مادر گوشتی مسن

مرتضی اصغری مقدم<sup>۱</sup>، سید رضا هاشمی<sup>۲</sup>، ID، مهران مهری<sup>۳</sup>، امیر کرمزاده ده‌افقانی<sup>۴</sup> و هما داودی<sup>۵</sup>

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

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۶

صفحه: ۷۷ تا ۶۸

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** یکی از روش‌های پهلوی در باروری، مکمل سازی عناصری نظری سلنیوم به جایه است. اثرات مکمل سازی سلنیوم متفاوت است و شدیداً تحت تأثیر منبع و مقدار سلنیوم گردید اذای پژوهش حاضر به منظور تأثیر مکمل سازی خوراکی منابع مختلف سلنیوم بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و پراکسیداسیون لیپیدی منی در خروس‌های مادر گوشتی مسن انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این پژوهش با استفاده از قلعه خروس مادر گوشتی راس با سن ۴۵ هفته در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار، ۴ تکرار و ۳ پرنده در هر تکر اجرا شد. علاوه بر جیره شاهد تنظیم شده بر اساس جدول استاندارد اختیارات غذایی خروس مادر گوشتی سه منبع مختلف سلنیوم شامل سلنیت سدیم، سلنیوم الی و نانو باپوکیلات سلنیوم، هر کدام در سه سطح صفر، ۰/۱۵ و ۰/۳۰٪ میلی‌گرم در کیلوگرم به جایه پایه خروس‌های تیماری افزوده شدند. بعد از دو هفته تغذیه با جیره پایه، خروس‌ها به مدت ۴۰ روز و از ابتدای سن ۴۷ هفتگی تیمارهای آزمایشی را دریافت کردند. هر ۱۰ روز یکبار اسپرم گیری به روش مالش شکمی از خروس‌ها صورت گرفت و سپس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز، پراکسیداسیون لیپیدی منی و غلظت تستوسترون پلاسمایی خون در ابتدا و انتهای آزمایش اندازه گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش 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 سلنیوم از منابع مختلف، موجب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز نسبت به گروه شاهد شد. همچنین سطح ۰/۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلمکس و نانو باپوکیلات سلنیوم بیشترین میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را نسبت به سایر سطوح سلنیوم از منابع مختلف موجب شدند (۰/۱۵٪). بیشترین مقدار پراکسیداسیون لیپیدی از راهکارهای در گروه‌های شاهد و ۰/۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم مشاهده شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در روز ۲۰ آزمایش، گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس و فعالیت ازیز گلوتاتیون پراکسیداز در روز ۱۰ آزمایش، گروه ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم بیشترین فعالیت را نشان داد. کمترین مقدار پراکسیداسیون لیپیدی در روز ۲۰ آزمایش مربوط به گروه ۰/۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو باپوکیلات سلنیوم بود. میزان تستوسترون در گروه ۰/۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس و نانو باپوکیلات سلنیوم نسبت به گروه‌های شاهد و ۱۵/۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس به طور معنی‌داری بیشتر بود، ولی بین سایر تیمارها تفاوتی مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که شکل الی سلنیوم (منابع سلمکس و نانو باپوکیلات سلنیوم) نسبت به شکل معدنی (سلنیت سدیم)، در سطح ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به جایه باعث بهبود عملکرد تولید مثلی خروس‌های مسن می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** خروس‌های مادر گوشتی، عملکرد تولید مثل، گلوتاتیون پراکسیداز، نانو باپوکیلات سلنیوم

## مقدمه

تعذریه تأثیر زیادی بر کیفیت و کمیت اسپرم دارد و از این رو غنی‌سازی جیره با ترکیباتی چند عملکردی نظری سلنیوم یکی از راهکارهای مقابله با کاهش باروری در خروس‌های مسن است (Alavi et al., 2020). سلنیوم به عنوان جزیی از آنژیمهایی مانند گلوتاتیون پراکسیدازها و سلنیوپروتئین‌ها، نقش کلیدی در بسیاری از فرآیندهای زیستی نظری سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانی، باروری، متabolیسم تبروئید و کارکرد سیستم ایمنی دارد (Ahsan et al., 2014). سلنیوم جزء اصلی جایگاه فعل گلوتاتیون 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 غشاء 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 سانتی گراد تنظیم شد. و سه منبع مختلف سلنیوم شامل سلنیوم معدنی (سلنیت سدیم)، سلنیوم آلی (سلمکس) و نانو باپوکیلات سلنیوم<sup>۱</sup> (بن‌داسل، توسعه بن دافرآور، ایران) هر کدام در سه سطح صفر، ۱/۱۵، ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی‌گرم در کیلوگرم، به جیره افزوده شدند. تیمارهای آزمایشی بعد از دو هفته تعذیبی 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 اختیارات 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 ابتداء در مقدار کمی خوراک مخلوط شد. این مقدار سپس در جیره پایه در میکسر مخلوط شد. تا از رسیدن به دوز موردنظر 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 کننده بلستویل تعییل یافته با pH ۷/۴ و اسمولاریته (Amini et al., 2015) استفاده شد (Akhlaghi et al., 2014).

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 سلنوامینوسیدها، زیست‌فرهایمی بیشتری نسبت به سلنات سدیم دارند (Dalia et al., 2018). در حال حاضر، شکل نانوسلنیوم به علت زیست‌فرهایمی بسیار بالاتر و سمیت کمتر نسبت به فرم‌های آلی و معدنی، جذابیت بیشتری پیدا کرده است. زیرا این ذرات نانومتری دارای ویژگی های 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 می‌باید، نانوذرات سلنیوم از فعالیت بیولوژیکی بالاتری به عنوان خد رادیکال‌هیدروکسیل برخوردار بوده و در محافظت علیه DNA موئثرتر عمل می‌نماید (Alavi et al., 2020). بنابراین احتمال می‌رود که نانوسلنیوم 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 پنهان باروری، مکمل سازی عناصری نظیر سلنیوم به جیره است (Dalgaard et al., 2018; Dalia et al., 2018). لذا پژوهش حاضر به منظور تاثیر مکمل سازی خوراکی منابع مختلف سلنیوم بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، فعالیت گلوتاتیون 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  $۵۱۸/۷\pm ۹۲/۹$  گرم و سن ۴۵ هفته در مزرعه آموزشی و تحقیقاتی دانشگاه زابل انجام شد.

## جدول ۱ - مواد خوارکی و ترکیب شیمیابی جیره پایه

Table 1. Ingredients and composition of the basal diet

مواد خوارکی Food Ingredients	مقدار (%) (/%) Amount
ذرت Corn	65.42
کنجاله سویا Soybean meal	6.50
سیوس گندم Wheat bran	23.80
روغن ذرت Corn Oil	1.00
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1.30
صفد Chalk	0.94
Mineral oyster shell	0.10
جوش شیرین NaHCO <sub>3</sub>	0.32
نمک طعام Salt	0.25
مکمل معدنی <sup>۱</sup> Complete Mineral	0.25
مکمل ویتامینی <sup>۲</sup> Vitamin supplements	0.12
دی-ال-میتوئین (۹۹%) D-Ly-methione (99%)	100
مجموع Total	
ترکیب مواد مغذی Nutrient Composition	
انرژی قابل متabolism (کیلو کالری/اکیلو گرم) AME (kcal/kg)	2700
بروتین خام٪ CP (%)	11.54
کلسیم٪ Calcium %	0.73
فسفر قابل دسترس٪ Available phosphorus %	0.34
سدیم٪ Sodium %	0.17
میتوئین٪ Metutinin%	0.31

۱- مکمل معدنی مقابله زیر را در هر کیلوگرم خوارک تأمین کرد: منگنز (منگنز اکسید) ۱۲۰ میلی گرم، آهن (سولفات آهن) ۵۰ میلی گرم، مس (سولفات مس) ۱۰ میلی گرم، ید (پتاسیم یدات) ۲ میلی گرم، روی (آرسنید روی) ۱۱۰ میلی گرم.

۲- مکمل ویتامینی مقابله زیر را در هر کیلوگرم خوارک تأمین کرد: ویتامین A (ویتامین A استات) ۱۲۰۰ IU، ویتامین D3 (ویتامین D3 استات) ۳۵۰۰ IU ویتامین E (دی-ال-آلfa-توکوفرول استات) ۱۰۰ IU، ریبوفلاوین ۱۲ میلی گرم، نیاسین ۵ میلی گرم، پنتوئین ۱۳ میلی گرم، پیریدوکسین (پیریدوکسین هیدروکلراید) ۶ میلی گرم، فولیک اسید ۲ میلی گرم، کوبالامین ۰.۰۳ میلی گرم، بیوتین ۰.۶۶ میلی گرم.

۱-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 D3 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 تشکیل دهنده رقیق کننده بلتسیویل بهبود یافته

Table 2. Composition of modified Beltsville extender

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

به منظور بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و گلوتاتیون پراکسیداز در پلاسمای منی، منی با نیتروی ۱۵۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، بالاصله قسمت بالایی مایع منی برداشته و تا زمان بررسی در دمای ۲۰-۲۰

به منظور بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و گلوتاتیون پراکسیداز در پلاسمای منی، منی با نیتروی ۱۵۰۰ g به مدت

مایع رویی در طول موج ۵۵۰ نانومتر قرائت شد. از نمونه استاندارد موجود در کیت برای رسم منحنی استاندارد و مطابق روشن بالا، استفاده شد. نتایج میزان MDA به صورت / nmol/ml بیان شد. خون گیری و اندازه گیری سطح تستوسترون در ابتدا و انتهای آزمایش صورت گرفت؛ به طوریکه، از هر تکرار دو خروص به طور تصادفی انتخاب و از طریق سیاه رگ بال، خون گیری صورت گرفت. نمونه های خون به لوله های ونوجکت حاوی ماده ضد انعقاد هپارین منتقل و در طول مدت خون گیری در ظرف حاوی بخ قرار داده شدند. بلا فاصله پس از تمام خون گیری، پلاسما به کمک سانتریفیوز با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جدا گردید. نمونه های پلاسما تا زمان بررسی سطح تستوسترون در دمای ۲۰-درجه سلسیوس در داخل میکروتیوب ها نگهداری شدند. غلظت سرمی تستوسترون خروص ها با استفاده از کیت تجاری الایزا مونوپلایند آمریکا و طبق راهنمای کیت مورد ارزیابی قرار گرفت (Sharideh et al., 2020). به طور خلاصه، ۱۰ میکرولیتر از نمونه سرم و استاندارد داخل چاهک های پلیت ۹۶ خانه ریخته شد. سپس، ۵۰ میکرولیتر از محلول آماده ۶۰ دقیقه در دمای اتاناق برای انکوباسیون قرار گرفت. در ادامه محتویات چاهک های پلیت از طریق آسپیره کردن دور ریخته شد و ۳۵۰ میکرولیتر محلول شستشو اضافه و سپس تخلیه شد (برای ۳ مرتبه). پس از تمام شستشو، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول working substrate به تمام چاهک ها اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاناق انکوبه شد. برای خاتمه دادن به واکنش، ۵۰ میکرولیتر از محلول Stop Solution به هر چاهک اضافه و به آرامی به مدت ۱۵-۲۰ ثانیه مخلوط شد. جذب نوری نمونه ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر در دستگاه پلیت ریدر 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 داده های پیوسته با استفاده از روش GLM و نرم افزار SAS ۹.4 (۲۰۱۲) انجام شد. میانگین ها به صورت میانگین حداقل مربعات (LSmeans) گزارش شده و توسط از مون توکی در سطح معنی داری ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند. P مساوی یا کوچکتر از ۰/۰۵ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد. مدل آماری جهت آنالیز داده های پژوهش به صورت زیر می باشد:

که در آن  $\bar{z}_{ij}$ ، هر مشاهده از فرآینجه مورد اندازه‌گیری؛  $e_{ij}$  میانگین جامعه؛  $T_i$ ، اثر تیمار و  $\epsilon_{ij}$ ، اثر باقی‌مانده یا اشتباہ آزمایش است.

درجه سانتی گراد نگهداری شد. ظرفیت آنتی اکسیدانی کل بر اساس روش FRAP<sup>(۱)</sup> (توانایی اجیاء کنندگی آهن فریک توسط قدرت آنتی اکسیدانی) و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز بر اساس روش نشانگر مقدار NADPH مصرف شده در مایع منی با استفاده از کیت های تجارتی نووند سلامت و مطابق دستورالعمل سازنده و با کمک دستگاه الایزا ریدر (Model ELx800; Bio Tek Instruments USA340-750nm , Shakouri et al., 2021) ارزیابی و سنجش قرار گرفتند (Sharideh et al., 2020). به طور خلاصه، برای بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، ۵ میکرولیتر از نمونه پلاسمای منی یا استاندارد آماده شده را در چاهک های پلیت ۹۶ خانه ریخته شد (از هر نمونه دو تکرار) و سپس به همه چاهک های حاوی نمونه و یا استاندارد، محلول کار آماده شده را اضافه و جذب نوری نمونه ها، پس از ۵ دققه، در طول موج ۵۹۳ nm میکرولیتر نمونه پلاسمای منی یا استاندارد آماده شده (از هر نمونه دو تکرار) درون چاهک های پلیت ۹۶ خانه ریخته شد. در ادامه، با افزودن ۴۰ میکرولیتر محلول آماده به کار Reagent ۱ به همه چاهک ها، نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. برای شروع واکنش و ارزیابی فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز، ۱۰ میکرولیتر محلول آماده به کار افزوده و به خوبی مخلوط شد. سپس، جذب نوری نمونه ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر در زمان صفر و پس از انکوباسیون در دمای اتاق به مدت ۵ دقیقه قراتت شد. نتایج میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز به صورت mL بیان Nalondi (Shakouri et al., 2021) شرکت نووند سلامت استفاده شد که روش تکارپذیر و استاندارد برای اندازه گیری میزان MDA و آگاهی از پراکسیداسیون لبید در نمونه های بیولوژیکی است (TBA) در دمای بالا، واکنش داده و محصول صورتی رنگی تولید می کند که با روش رنگ سنجی اندازه گیری می شود. بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده، یک میلی لیتر پلاسمای منی را داخل لوله آزمایش ریخته و سپس مقدار ۳۰۰ میکرولیتر Lysis Buffer و ۳ میکرولیتر BHT (Butylated hydroxytoluene) اضافه و هموزن شد. برای حذف مواد نامحلول، مخلوط حاصل به مدت سه دقیقه در ۱۳۰۰ دور سانتریفیوز شد و از مایع رویی به عنوان نمونه استفاده شد. برای سنجش میزان MDA، ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه ها آماده شده را با ۸۰۰ میکرولیتر محلول آماده با کار مخلوط شد. سپس درب لوله ها کامل بسته و درون بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شد. در مرحله بعد، نمونه ها را به مدت ۱۰ دقیقه درون ظرف حاوی آب بخ قرار داده شد تا سریع سرد شوند. در ادامه، نمونه ها در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوز شد و ۲۵۰ میکرولیتر از مایع رویی به چاهک های پلیت ۶۷ خانه منتقل شد و جذب

دربافت کننده  $0.30 \text{ میلی‌گرم}$  در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلمکس و بن‌داسل بود ( $P \leq 0.05$ : جدول ۳). پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع (PUFA) در غشاءای سلولی اسپرم می‌تواند موجب افزایش MDA و اختلال در عملکرد سلول از طریق از دست دادن یکپارچگی و عملکرد غشا شود. لذا کاهش پراکسیداسیون لبید به‌واسطه مکمل‌سازی ترکیبات آنتی‌اسیدانی برای بهبود باروری ضروری است. گزارش شده است که میزان MDA پلاسمای منی با فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و ظرفیت آنتی‌اسیدانی کل رابطه منفی دارد (Namazi Zadegan et al., 2022). در مطالعات دیگر نیز کاهشی در MDA پلاسمای منی با افزودن سلنیوم 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  $0.30 \text{ میلی‌گرم}$  در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلمکس و بن‌داسل، بیشتر از گروه شاهد و خروس‌های گروههای دریافت‌کننده  $0.15 \text{ میلی‌گرم}$  سلنیت سدیم و  $0.15 \text{ میلی‌گرم}$  در کیلوگرم سلمکس بود. بین سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ : جدول ۳). به تازگی گزارش شده است که تغذیه خروس‌ها با جیره کم‌سلنیوم موجب کاهش هورمون‌های جنسی (تستوسترون و استرادیول) و کاهش فعالیت آنتی‌اسیدانهای آنزیمی (گلوتاتیون S ترانس‌فراز و گلوتاتیون پراکسیداز) می‌شود. محققین این مطالعه، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و اختلال در ساخت آنتی‌اسیدانهای 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  $0.30 \text{ mg/kg}$  و  $0.15 \text{ mg/kg}$  درصد شد و گروه شاهد غلظت کمتری از تستوسترون را نسبت به گروه  $0.30 \text{ mg/kg}$  سلمکس و بن‌داسل نشان داد. این تغییرات در روز  $40$  آزمایش صورت گرفت. که با یافته‌های مطالعه قبلی مطابقت دارد (Khalil-Khalili et al., 2021). ریزمندی سلنیوم احتمالاً از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اسیدانی 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 سلنیوم اثرات مثبتی بر تکوین سلول‌های سینه‌فروسر دارد و موجب افزایش زندگانی سلول‌های سرتولی و کاهش آبوبیوز سلول‌های زایا می‌گردد (Huang et al., 2016; Khalid et al., 2016; Sharpe et al., 2003).

## نتایج و بحث

سلنیوم به عنوان جزیی ضروری در سلنیوپرتوئین‌ها، نقش‌های ساختاری و آنزیمی را انجام می‌دهد. در خصوص نقش آنزیمی سلنیوم، اعمال کاتالیزوری و آنتی‌اسیدانی آن به خوبی شناخته شده است (Qazi et al., 2019). بر اساس نتایج به دست آمده، سطوح  $0.30 \text{ و } 0.45 \text{ میلی‌گرم}$  در کیلوگرم سلنیوم از منابع مختلف، موجب بهبود ظرفیت آنتی‌اسیدانی کل نسبت به گروه شاهد شد و بیشترین میزان این فرآینده مربوط به گروههای دریافت کننده سلمکس و بن‌داسل بود ( $P \leq 0.05$ : جدول ۳). گزارش شده است تغذیه خروس‌ها با جیره کمبود سلنیوم موجب کاهش فعالیت آنتی‌اسیدانهای آنزیمی (گلوتاتیون S ترانس‌فراز و گلوتاتیون پراکسیداز) می‌شود (Li et al., 2020); در مطالعه‌ما، مکمل‌سازی سلنیوم معنی‌داری بهبود معدنی گلوتاتیون پراکسیداز را بهبود بخشید؛ با این حال تأثیر شکل آلتی بیشتر از شکل معدنی بود. بسیاری از سلنیوپرتوئین‌هایی که‌دارای دومین‌هایی تیوردوکسین هستند نقش آنتی‌اسیدانی دارند (Qazi et al., 2019) میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در سطوح  $0.30 \text{ و } 0.45 \text{ میلی‌گرم}$  در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلنیت سدیم و سلمکس و در تمامی سطوح بن‌داسل، نسبت به گروههای شاهد و سطح  $0.15 \text{ mg/kg}$  سلنیوم از منابع سلنیت سدیم و سلمکس بیشتر بود. همچنین سطح  $0.30 \text{ mg/kg}$  سلنیوم از منابع سلمکس و بن‌داسل بیشترین میزان فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را نسبت به سایر سطوح سلنیوم از منابع مختلف را نشان داد ( $P \leq 0.05$ : جدول ۳). در پژوهشی، افزایش در فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز با تغذیه شکل آلتی سلنیوم، نسبت به شکل معدنی، در خروس‌ها مشاهده نشد (Maysa et al., 2009). با این حال، هیچ‌گونه تفاوتی در گلوتاتیون پراکسیداز و ظرفیت آنتی‌اسیدانی کل خروس‌های نژاد Lingnan yellow با افزودن منابع آلتی و معدنی سلنیوم 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). مالون دی‌آلید (MDA) محصول نهایی پایداری پراکسیداسیون اسیدهای چرب است و لذا می‌تواند به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لبید در نظر گرفته شود. که ارتباط منفی با باروری اسپرم دارد. در پژوهش حاضر، بیشترین مقدار پراکسیداسیون لبید در گروههای شاهد و  $0.15 \text{ میلی‌گرم}$  در کیلوگرم سلنیت سدیم مشاهده شد. با افزایش سطح سلنیت سدیم و یا استفاده از منابع آلتی، میزان پراکسیداسیون لبیدی به طور معنی‌داری کاهش یافت، به طوری که کمترین میزان این فرآینده مربوط به گروههای

مرتضی اصغری مقدم، سید رضا هاشمی، مهران مهری، امیر کرم زاده دهاقانی و هما داودی  
تأثیر مکمل سازی خوراکی منابع مختلف سلنیوم بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و پراکسیداسیون لبیدی ..... ۷۴

جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف سلنیت سدیم، سلمکس و بن داسل بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و پراکسیداسیون لبیدی در منی و غلظت تستوسترون در خون (Lsmeans  $\pm$  SEM).

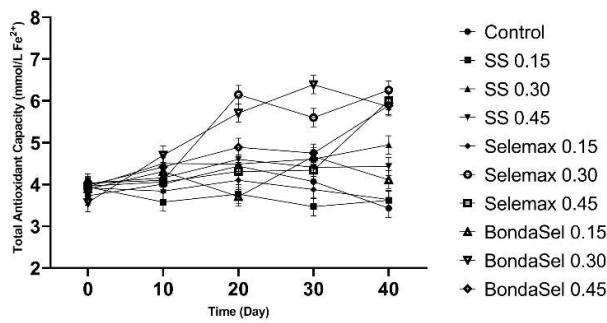
Table 3. The effect of different levels of sodium selenite, Selmax and Bendacel on total antioxidant capacity, glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation in semen and testosterone concentration in blood (Lsmeans  $\pm$  SEM)

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

میانگین های با حروف غیر مشابه در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی داری دارند (P≤0.05)  
a-g different superscripts in the same column show significant differences (P≤0.05)

سلنیوم از منابع سلمکس و بن داسل در خصوص ظرفیت آنتی اکسیدانی کل وجود نداشت، اما با سایر گروه ها اختلاف معنی داری مشاهده شد (شکل ۱). همچنین در این روز، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در گروه ۰/۳۰ میلی گرم در کیلو گرم سلنیت سدیم نسبت به گروه های شاهد و دریافت کننده ۰/۱۵ میلی گرم در کیلو گرم سلنیوم از منابع مختلف و همچنین ۰/۴۵ میلی گرم در کیلو گرم سلمکس بیشتر بود (شکل ۱). افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل با افزودن سلنیوم از منابع آبی و معدنی در پژوهش حاضر، می تواند باعث بهبود عملکرد سلنیوپروتئین ها شود. علاوه بر این، گزارش شده است که سلنیوم می تواند عملکرد سوبراکسید دسموتاژ و کاتالاز را افزایش دهد. همسو با نتایج پژوهش حاضر، بهبودی در ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز با افزودن سلنیوم به جیره AlKaabi & Ali, 2021; Khalil-Ashraf et al., 2020; Kamrani et al., 2021; Khalil-Khalili et al., 2021; Shamiah et al., 2017

با توجه به شکل ۱ ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در روز ۲۰ و گروه ۰/۳۰ میلی گرم در کیلو گرم سلمکس به طور معنی داری نسبت به سایر گروه ها، و در گروه های ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی گرم در کیلو گرم بن داسل نسبت به گروه های شاهد و دریافت کننده ۰/۱۵ میلی گرم در کیلو گرم سلنیوم از منابع مختلف و همچنین ۰/۴۵ میلی گرم در کیلو گرم سلمکس بیشتر بود (۰/۰.۵≤P≤۰/۰.۵؛ شکل ۱). در صورتی که بیشترین مقدار ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در روز ۳۰ آزمایش مربوط به گروه ۰/۳۰ میلی گرم در کیلو گرم بن داسل بود که با سایر گروه ها، بجز گروه دریافت کننده ۰/۳۰ میلی گرم در کیلو گرم سلمکس، اختلاف معنی داری داشت (۰/۰.۵≤P≤۰/۰.۵؛ شکل ۱). کمترین مقدار ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در این روز، مربوط به گروه ۰/۱۵ میلی گرم در کیلو گرم سدیم سلنیت بود که نسبت به گروه های ۰/۳۰ میلی گرم در کیلو گرم سلمکس و ۰/۴۵ میلی گرم در کیلو گرم بن داسل اختلاف معنی داری داشت (شکل ۱). در روز ۴۰ آزمایش، اختلاف معنی داری بین گروه های دریافت کننده ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی گرم در کیلو گرم



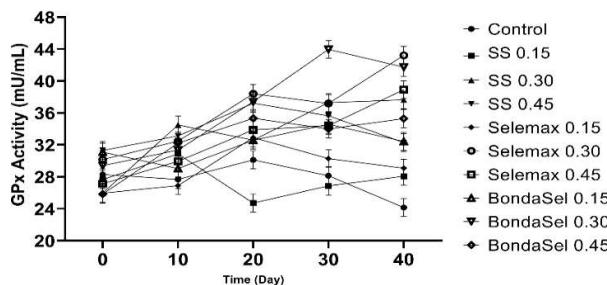
شکل ۱- نمودار تأثیر سطوح مختلف سلنیت سدیم، سلمکس و بن داسل بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل پلاسمای منی در زمان های مختلف  
Figure 1. Diagram of the effect of different levels of sodium selenite, Selmax and Bendacel on the antioxidant capacity of the whole seminal plasma at different times

۰/۰۵ میلی گرم در کیلو گرم سلنیت سدیم و دریافت کننده ۰/۳۰ میلی گرم در کیلو گرم سلنیوم از منابع سلمکس و بن داسل نسبت به گروه های شاهد و ۰/۱۵ میلی گرم در کیلو گرم سلمکس سدیم در روز ۲۰ آزمایش بیشترین فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را نشان دادند (۰/۰.۵≤P≤۰/۰.۵؛ شکل ۲). با این

در خصوص فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در روز ۱۰ آزمایش، گروه ۰/۳۰ میلی گرم در کیلو گرم سلنیت سدیم بیشترین فعالیت را نسبت به گروه های شاهد و ۰/۱۵ میلی گرم در کیلو گرم سلمکس نشان داد، در صورتی که بین سایر گروه های تفاوتی معنی داری مشاهده نشد (شکل ۲). گروه های

که اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها، بجز گروه‌های  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم و  $0/45$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس، داشت (شکل ۲). کمترین مقدار فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در روز  $40$  آزمایش مربوط به گروه شاهد بود اما اختلاف میانگین آن با گروه‌های دریافت کننده  $0/15$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلنیت سدیم و سلمکس، معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ) (شکل ۲).

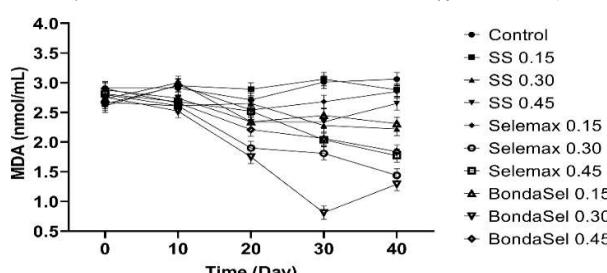
حال، در روز  $30$  آزمایش، گروه  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم بن‌داسل نسبت به سایر گروه‌ها، و گروه‌های دریافت کننده  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلنیت سدیم و سلمکس، نسبت به گروه‌های شاهد و دریافت کننده  $0/15$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلنیت سدیم و سلمکس، بیشترین فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را نشان دادند ( $P \leq 0.05$ ) (شکل ۲). بیشترین فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در روز  $40$  آزمایش مربوط به گروه‌های دریافت کننده  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلمکس و بن‌داسل بود.



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  $0/15$  میلی‌گرم در کیلوگرم سدیم کمتر بود. در روز  $40$  آزمایش مشاهده شد که گروه‌های دریافت کننده  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلمکس و بن‌داسل کمترین میزان پراکسیداسیون لیپید را نسبت به سایر گروه‌ها، بجز گروه‌های دریافت کننده  $0/45$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از منابع سلمکس و بن‌داسل دارند. همچنین گروه  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس و بن‌داسل دارند. همچنین گروه  $0/15$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم نسبت به گروه‌های شاهد و  $0/15$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم شاهد و  $0/15$  میلی‌گرم در روز  $40$  آزمایش داشتند (شکل ۳). پراکسیداسیون کمترین در این  $0/15$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم نسبت به سایر گروه‌ها در روز  $30$  آزمایش، نتایج این پژوهش نیز نشان داد که مکمل‌سازی سلنیوم موجب کاهش MDA منی (تقريباً  $13/7$ ,  $28/4$  و  $37/3$  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 این ریز‌مغذی می‌شود (Namazi et al., 2022).

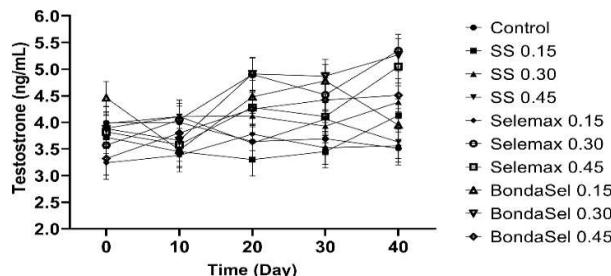
کمترین مقدار پراکسیداسیون لیپید در روز  $20$  آزمایش مربوط به گروه  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم بن‌داسل بود که اختلاف معنی‌داری با گروه‌های شاهد،  $0/15$  و  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم و  $0/45$  و  $0/15$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس داشت ( $P \leq 0.05$ ) (شکل ۳). همچنین  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس، نسبت به گروه‌های شاهد،  $0/15$  و  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم و  $0/15$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس، کمترین میزان پراکسیداسیون لیپید را نشان داد. گروه  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم بن‌داسل نسبت به سایر گروه‌ها در روز  $30$  آزمایش، کمترین میزان پراکسیداسیون لیپید را داشت. همچنین در این روز، گروه  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس کمترین میزان پراکسیداسیون لیپید را نسبت به گروه‌های شاهد،  $0/15$  و  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم بن‌داسل نسبت سدیم،  $0/15$  و  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم بن‌داسل و  $0/15$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس نشان داد. پراکسیداسیون لیپید نیز در گروه  $0/30$  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; .(Shamiah 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 ( $>0/0.5$ ). مطالعات گذشته نیز افزایشی در غلظت اسپرم و



شکل ۴- نمودار تأثیر سطوح مختلف سلنیت سدیم، سلمکس و بن داصل 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 خروس های مسن با بهبود  
عملکرد تولید مثالی همراه باشد.

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

**تعارض منافع**  
بین نویسندها تعارض در منافع وجود ندارد.

### نتیجه گیری کلی

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

### 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., Pirsaraei, 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-Ahangaran, 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., Rezaceipour, V., & Abdollahpour, R. (2016). Effects of intramuscular injections of vitamin E-selenium and a gonadotropin releasing hormone analogue (GnRHa) 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., Zaghami, 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-PlexTM) on productive, reproductive and physiological traits of Bandarah local strain. *Egyptian Poultry Science Journal*, 29(4), 1061-1084.
- Mehaisen, G. M. K., Partyka, A., Ligocka, Z., & Niżański, 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., Rakhsanpour, 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., & Zaghloul, 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., Zaghami, 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.