Downloaded from rap.sanru.ac.ir at 9:17 +0430 on Saturday April 10th 2021

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"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

نامدارکامرانی[۱]، امیرکریمی[۲]، ذبیح‌اله نعمتی[۳] و مقصود بشارتی[۳]

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 به‌منظور 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، ۲٤ قطعه خروس سویه راس ۳۰۸ با سن ۲۸ هفتگی در قالب طرح کاملا تصادفی با ٤ تیمار و ٦ 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 ٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن طی ۳ مرحله و به‌صورت یک روز در میان) ۳) گروه $DEX_{(OSe)}$: گروه دریافت‌کننده دگزامتازون همانند گروه ۲، همراه با جیره مکمل‌سازی شده با ۰/۳ میلی‌گرم سلنیوم بر کیلوگرم خوراک از سلنومتیونین به‌عنوان منبع سلنیوم آلی و ٤) گروه $DEX_{(ISe)}$: مانند گروه۳، اما جیره با ۰/۳ میلی‌گرم سلنیوم بر کیلوگرم خوراک از سلنیت سدیم به‌عنوان منبع سلنیوم معدنی مکمل‌سازی شد. پس از اسپرم‌گیری فرآیند انجماد اسپرم با کمک رقیق‌کننده بلتسویل مدیفای شده انجام گرفت. پس از یخ‌گشایی اسپرم‌ها، فرآسنجه‌های حرکتی با کمک سیستم آنالیز کامپیوتری انجام شد. نتایج نشان داد که مکمل سازی جیره با سلنیوم آلی در پرندگان تحت تنش با دگزامتازون ($DEX_{(OSe)}$)، سبب بهبود تحرک کل و تحرک پیش‌رونده اسپرم نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی شد ($p<۰/۰۵$) اگرچه $DEX_{(OSe)}$ تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد در حرکت پیش‌رونده اسپرم، نداشت ($p>۰/۰۵$). همچنین مصرف سلنیوم معدنی ($DEX_{(ISe)}$) تاثیر معنی‌داری بر بهبود تحرک کل و تحرک پیش‌رونده اسپرم، نسبت به گروه DEX نداشت ($p>۰/۰۵$). از طرف دیگر، نه‌تنها زنده‌مانی و یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم، بلکه پارامترهای بیوشیمیایی (گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) نیز در گروه $DEX_{(OSe)}$ نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی بالاتر بود ($p<۰/۰۵$). به طور کلی به‌نظر می‌رسد، مکمل سازی 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

مناسب ترین ابزار جهت به دست آوردن بازده ژنتیکی بالا و کاهش بیماری‌های تولید مثلی، تلقیح مصنوعی است که تحت تأثیر 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 به‌دلیل 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 آن ها 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 تأثیر منفی می‌گذارد (۵). تعداد اسپرم و تحرک آن ها شاخص‌های اساسی توانایی 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 این‌حال، در شرایط پاتولوژیک، سطح بیش از حد ROS ممکن است بر کیفیت آنها تأثیر منفی بگذارد (۲۶). اسپرم‌ها به‌عنوان سلول‌هایی که در شرایط هوازی زندگی می‌کنند، با یک تناقض اکسیژن روبرو هستند: O_2 برای آنها بسیار مهم است، اما متابولیت‌های آن مانند ROS می‌توانند عملکرد اسپرم را تغییر داده و بقای آنها را به‌خطر 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 ارگانیسم، به‌طور قابل توجهی کیفیت انزال در جنس نر را تعدیل می‌کند (۴۵). سلنیوم را می‌توان در بدن به‌عنوان بخشی از حداقل ۲۵ سلنوپروتئین مشاهده کرد

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from rap.sanru.ac.ir at 9:17 +0430 on Saturday April 10th 2021

(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 سلنیوم یک عنصر تشکیل‌دهنده اسپرم و از عناصر اساسی برای اسپرماتوژنز است (۵۰). در بیضه‌ها، چندین سلنوپروتئین مانند سلنوفسفات سنتاز (SPS-2) و سلنوپروتئین میتوکندریایی وجود دارند (۲۱،۱۴). عمل بیولوژیکی سلنیوم در پستانداران از طریق ترکیبات فعال زیستی شامل آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و سایر سلنوپروتئین‌های سرم و بافت بیان می‌شود (۲۴). سلنیوم از طریق مشارکت در محل فعال آنزیم گلوتاتیون 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 سلنیومی مانند سلنومتیونین، باعث افزایش کمیت و کیفیت مایع منی می‌شود (۱۸). عنصر سلنیوم می‌تواند در حالت اکسیداسیون یا احیاء به شکل سلنیت سدیم، سلنات سدیم و سلنید سدیم وجود داشته باشد. بنابراین سلنیوم 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 (سلنیوم 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 سلنیوم آلی (سلپلکس) هیچ تأثیری بر غلظت، حجم و pH اسپرم نداشت ولی مکمل‌سازی جیره خروس با ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک سلنیوم آلی (سلپلکس) می‌تواند سبب بهبود کیفیت اسپرم خروس گردد (۲).

هدف از مطالعه حاضر مقایسه منابع مختلف سلنیومی با منشاء معدنی و آلی بر فرآسنجه‌های 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 آبخوری نیپلی، 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 مکمل سازی با منابع سلنیوم و یا تزریق دگزامتازون (CON، 2) گروه DEX: مصرف کننده جیره پایه همراه با تزریق دگزامتازون (به‌مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن طی ۳ مرحله و به‌صورت یک روز در میان) ۳) گروه $DEX_{(OSe)}$: گروه دریافت‌کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره مکمل‌سازی شده با سلنومتیونین به‌عنوان منبع سلنیوم آلی به‌مقدار ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک و ۴) گروه $DEX_{(ISe)}$: گروه دریافت‌کننده دگزامتازون همراه با جیره مکمل‌سازی شده با ۰/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک سلنیت سدیم به‌عنوان منبع سلنیوم 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 رقیق کننده 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 فرآسنجه‌های 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).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from rap.sanru.ac.ir at 9:17 +0430 on Saturday April 10th 2021

جدول ۱- اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره آزمایشی

Table 1. Feed ingredients and composition of experimental diet

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

۱- هرکیلوگرم مکمل ویتامینی شامل: ویتامین A ۳۶۰۰۰۰۰واحد بین‌المللی، ویتامینD3 ۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E ۷۲۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین B1 ۷۲۰ میلی‌گرم، ویتامین B2 ۲۶۴۰ میلی‌گرم، اسید پانتوتنیک ۴۰۰۰ میلی‌گرم، اسید نیکوتنیک ۱۲۰۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B6 ۱۲۰۰ میلی‌گرم، اسید فولیک ۴۰۰ میلی‌گرم، ویتامین B12 ۶ میلی‌گرم، ویتامین K3 ۸۰۰ میلی‌گرم، بیوتین ۴۰ میلی‌گرم، کولین کلراید ۱۰۰۰۰۰ میلی‌گرم و آنتی‌اکسیدان ۴۰۰۰۰ میلی‌گرم. ۴۰ گرم منگنز به شکل سولفات منگنز، ۸۰ میلی‌گرم سلنیوم،۵۰ گرم آهن به شکل سولفات آهن، ۱۰ گرم مس به شکل سولفات مس، ۴۰۰ میلی‌گرم ید

جدول ۲- اجزای تشکیل‌دهنده رقیق کننده بلتسیویل بهبود یافته

Table 2. Composition of modified Beltsville extender

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

ارزیابی تحرک اسپرم با دستگاه کاسا

جهت ارزیابی فرآسنجه‌های حرکتی اسپرم از قبیل تحرک کل، تحرک پیش‌رونده، میانگین سرعت در مسیر، سرعت در مسیر مستقیم، سرعت در مسیر منحنی، خطی بودن تحرک، درصد مستقیم‌الخط 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 رقیق‌شده را روی لام ریخته و یک لامل تمیز روی آن قرار داده شد و فرآسنجه‌های 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 میلی‌لیتر آب مقطر، بررسی شد. برای این‌منظور، ۱۰ میکرولیتر منی رقیق‌شده 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 بزرگنمای 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) به‌منظور بررسی یکپارچگی غشای پلاسمایی اسپرم استفاده شد. برای این‌منظور ۱۰ میکرولیتر از مایع منی به ۱۰۰ میکرولیتر از محیط هایپواسموتیک هاست که حاوی ۹ گرم فروکتوز، ۴/۹ گرم سیترات سدیم، ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با اسمولاریته ۱۰۰ میلی‌اسمول 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 ۳۷۵-۳۲۰ میلی اسمول است، اسپرم با قرار گرفتن در این محیط به‌سرعت 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).

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from rap.sanru.ac.ir at 9:17 +0430 on Saturday April 10th 2021

شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی

برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی آلدئید 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 به‌مدت 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 دی آلدئید مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از هر نمونه را برداشته و با یک میلی‌لیتر محلول اسید تری‌کلریدریک ۲۰ درصد و تیوباربیتوریک اسید ۰/۵ درصد مخلوط شده و به‌مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس نمونه‌ها بعد از سرد شدن در داخل یخ، به‌مدت 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 گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و اندازه‌گیری ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون 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 کاملا 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 jام در تیمار iام، μ= میانگین کل تیمار، T_i= اثر تیمار و e_{ij}= اثرات باقیمانده، هستند.

نتایج و بحث

داده‌های مربوط به فرآسنجه‌های حرکتی اسپرم، در (جدول۳) ارایه شده است. با توجه به این جدول، مشاهد می‌شود که سلنیوم آلی دارای بهترین عملکرد بوده و تحرک کل اسپرم در این تیمار در مقایسه با تیمار شاهد، شاهد همراه با دگزامتازون و سلنیوم معدنی همراه با دگزامتازون، تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$). تحرک پیش‌رونده اسپرم در تیمار سلنیوم آلی در مقایسه با تیمار شاهد، اختلاف معنی‌داری ندارد ($p>۰/۰۵$) ولی در مقایسه با شاهد همراه با دگزامتازون و سلنیوم معدنی همراه با دگزامتازون، تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$). 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 سلنیوم باعث افزایش فعالیت آنزیمی با استفاده از ATP و مسیرهای 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 سلنیوم 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، سلنیوم 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 سلنیوم آلی (سلپلکس) ppm ۰/۳، در مقایسه با تیمارهای سلنیوم معدنی (سدیم سلنیت) 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 سلنیوم آلی که دگزامتازون نیز دریافت کرده بود، دارای بیشترین مقدار بوده در حالی‌که گروه آزمایشی شاهد دریافت‌کننده دگزامتازون، کمترین مقادیر را نشان داد ($p<۰/۰۵$). سرعت در مسیر منحنی، در تیمار شاهد بیشترین مقدار بود ولی اختلاف معنی‌داری با تیمار سلنیوم آلی نداشت. در مورد فرکانس حرکات جانبی تیمارهای شاهد و سلنیوم آلی مقادیر کمتری نسبت به تیمارهای شاهد همراه با دگزامتازون و سلنیوم معدنی نشان دادند. این فرآسنجه‌ها نیز موید اثر مثبت سلنیوم بر پارامترهای اسپرم می‌باشد، زیرا در پژوهش‌های دیگر نشان داده شده است که پارامترهای حرکتی ارتباط توأم و نزدیکی با تحرک اسپرم دارند (۲۷).

www.SID.ir

Archive of SID

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

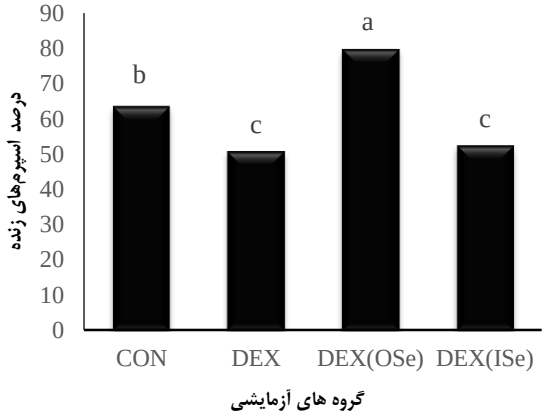
Table 3. Effects of organic and inorganic forms of selenium on motility and motility parameters of frozen-thawed sperm in broiler breeder roosters under oxidative stress

پارامترها	تیمارهای آزمایشی[1] CON[2]	DEX	$DEX_{(OSe)}$	$DEX_{(ISe)}$	خطای استاندارد	سطح معنی‌داری
تحرک کل اسپرم (٪)	۶۸/۸۶^{b}	۴۹/۱۶^{c}	۷۹/۹^{a}	۵۴/۵^{c}	۱	<۰/۰۰۰۱
تحرک پیش‌رونده اسپرم (٪)	۲۶/۳۳^{a}	۱۲/۴۶^{b}	۳۲/۸۶^{a}	۱۵/۶۳^{b}	۱/۳۵	۰/۰۰۶۶
میانگین سرعت در مسیر (میکرومتر بر ثانیه)	۱۹/۰۸^{a}	۱۱/۹۹^{b}	۲۰/۶۷^{a}	۱۵/۰۳^{ab}	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^{a}	۳۴/۹۲^{c}	۴۷/۳۰^{ab}	۴۲/۰۳^{bc}	۱/۱۹	۰/۰۰۴۷
خطی بودن تحرک(٪)	۲۵/۶۶	۲۲/۲۵	۳۷/۷۳	۲۷/۸۳	۱/۴۱	۰/۰۶۱۲
درصد مستقیم الخط بودن حرکت اسپرم‌ها (٪)	۷۰/۸۵^{ab}	۶۴/۴۵^{b}	۷۵/۶۰^{a}	۷۳/۶۷^{a}	۱/۱۴	۰/۰۳۸۲
تحرک عرضی سر(میکرومتر)	۱/۴۸^{a}	۰/۹۰^{b}	۱/۳۳^{a}	۱/۰۹^{b}	۰/۱۹	۰/۰۰۲۱
فرکانس حرکات جانبی(هرتز)	۱۴/۱۹^{b}	۱۶/۰۸^{a}	۱۴/۲۱^{b}	۱۶/۶۹^{a}	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 سلنیوم و یا تجویز دگزامتازون)، DEX: گروه مصرف کننده جیره پایه همراه با تجویز دگزامتازون، DEX(OSe): گروه دریافت کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلنیوم آلی و DEX(ISe): گروه دریافت کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلنیوم معدنی.

با توجه به داده‌های موجود در (شکل ۱) مشاهده می‌شود که سلنیوم آلی (۷۹/۸۴ درصد)، زنده‌مانی اسپرم‌ها در برابر شوک سرمایی وارد شده موقع انجماد را توانسته به‌خوبی کنترل کند و این تیمار دارای بیشترین مقدار زنده‌مانی بوده و از نظر آماری نیز اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$). افزایش زنده‌مانی اسپرم پس از دوره انجماد-یخ گشایی، با مکمل‌سازی سلنیوم در جیره گاومیش نیز نشان داده شده است (۲۵). برخلاف سلنیوم آلی، مکمل‌سازی جیره مصرفی با سلنیوم معدنی نتوانسته به‌خوبی اثرات منفی تنش ایجاد شده توسط دگزامتازون بر زنده‌مانی اسپرم را کاهش دهد. دلیل این امر شاید مربوط به تبدیل شدن سلنیت سدیم به مشتقات دیگری مانند سلنیدها و یا دی‌اکسید سلنیوم باشد که می‌تواند با ملکول‌های زیستی مانند گلوتاتیون 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 تاثیرات منفی مانند آسیب دیدگی غشای سلولی و کاهش زنده‌مانی سلول شود؛ زیرا گلوتاتیون پروکسیداز بخش بسیار مهمی از سیستم آنتی‌اکسیدانی سلول در محافظت از غشای سلولی در برابر عوامل اکسید کننده می‌باشد (۴۰). خروس‌هایی که دگزامتازون 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 دگزامتازون به‌مقدار ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن سبب افزایش درصد اسپرم‌های مرده می‌شود.



شکل ۱- اثرات منابع آلی و معدنی سلنیوم 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 مصرف‌کننده سلنیوم آلی در حداکثر مقدار نسبت به گروه‌های آزمایشی دیگر بوده و با آنها اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$). در مطالعه حاضر، سلنیوم معدنی نیز نتوانسته آن چنان که انتظار می‌رفت، عملکرد خوبی از خود نشان دهد و یک پارچگی غشای پلاسمایی در این تیمار، متاسفانه نسبت به گروه‌های مصرف کننده سلنیوم آلی و نیز گروه شاهد ضعیف تر بود ($p<۰/۰۵$). در این رابطه شایان ذکر است در

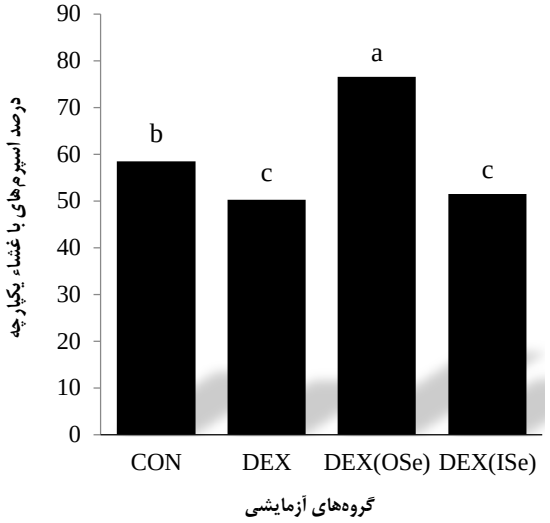
Downloaded from rap.sanru.ac.ir at 9:17 +0430 on Saturday April 10th 2021

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from rap.sanru.ac.ir at 9:17 +0430 on Saturday April 10th 2021

تیمارهای مصرف کننده مکمل سلنیوم چه بصورت آلی و چه به‌صورت معدنی، تزریق دگزامتازون نیز انجام شده است. و در این رابطه گویا به‌نظر می رسد مصرف کننده تیمار معدنی نسبت به تیمار آلی، نتوانسته اثرات منفی دگزامتازون در گروه مذکور را کاهش دهد. همین نتیجه یاد شده نیز در مورد فراسنجه یک پارچگی غشای پلاسمایی (نمودار ۲) مشاهده می‌شود.



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

داده‌های مربوط به پارامترهای بیوشیمیایی در جدول (۴) نشان شده است. با نگاه به این جدول مشاهده می‌شود که مالون دی‌آلدهید در تیمارهای سلنیوم آلی و معدنی به‌همراه دگزامتازون در مقایسه با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داده ($p<۰/۰۵$). به گونه‌ای که مالون دی‌آلدهید 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 دی‌آلدهید همراه است (۳). پراکسیداسیون باعث ایجاد تغییرات نامطلوب در ساختار بخش آکروزومی اسپرم‌ها می‌شود و در نتیجه تحرک و زنده‌ماندن 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 دی‌آلدهید بوده و نشان می‌دهد که مکمل‌سازی سلنیوم آلی و معدنی در گروه‌های دریافت کننده دگزامتازون توانسته‌است به‌خوبی اثرات سرکوب کنندگی 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 به‌ترتیب برابر با ۱/۱۶ و ۱/۰۱ می‌باشند. فعالیت آنزیمی گلوتاتیون پراکسیداز تولید شده در تیمارهای مصرف‌کننده سلنیوم آلی و معدنی به‌همراه دگزامتازون اختلاف معنی‌داری نشان ندادند؛ ولی در مقایسه با تیمار شاهد و شاهد همراه با دگزامتازون به‌طور معنی‌داری بالاتر بودند ($p<۰/۰۵$). حداقل ۵۰ درصد از مواد کپسولی را پروتئین گلوتاتیون پراکسیداز شامل می‌شود که مارپیچ میتوکندری را در خود جای داده است (۴۷). با توجه به فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در پلاسمای منی، آنزیم حاوی سلنیوم، گلوتاتیون 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 گلوتاتیون پراکسیداز در اسپرماتوزوآ در پلاسمای منی و ۴۰ درصد در اسپرماتوزوآ مشاهده می‌شود (۴۱) در حالی‌که در مطالعه سوریا و همکاران (۴۲) که مصرف سلنیوم (۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) در رژیم غذایی جنس نر باعث افزایش فعالیت وابسته به گلوتاتیون 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 گلوتاتیون پراکسیداز منی افزایش یافت (۱۷). گلوتاتیون پراکسیداز آنزیم آنتی‌اکسیدانی است که همانند سوپراکسید دیسموتاز با ممانعت از پراکسیداسیون لیپید موجود در غشای اسپرم و در نهایت از طریق بهبود حرکت اسپرم، بر عملکرد اسپرم تأثیر می‌گذارد (۳۳). گلوتاتیون 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 سلنیت ۰/۵، ۱ و ۲

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from rap.sanru.ac.ir at 9:17 +0430 on Saturday April 10th 2021

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 دی آلدهید 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 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 ارگانیسم‌های 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_2 را به H_2O_2 کاتالیز می‌کند (۴).

جدول ۴- اثرات منابع آلی و معدنی سلنیوم بر پارامترهای بیوشیمیایی اسپرم منجمد یخ گشایی 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

	تیمارهای آزمایشی[1]					
پارامترها	CON[2]	DEX	$DEX_{(OSe)}$	$DEX_{(ISe)}$	خطای استاندارد	سطح معنی‌داری
مالون دی‌آلدهید (nmol/ ml)	۶/۹۴^{b}	۹/۱۱^{a}	۵/۷۱^{c}	۵/۲۹^{c}	۰/۴۵	۰/۰۰۰۳
ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (U/ml)	۱/۱۶^{a}	۱/۰۱^{b}	۱/۲۸^{a}	۱/۱۹^{a}	۰/۱۳	۰/۰۰۴۳
گلوتاتیون پراکسیداز (U/ml)	۵۵/۶۹^{b}	۴۶/۱۶^{c}	۷۱/۱۲^{a}	۶۹/۲^{a}	۱/۱۳	۰/۰۰۰۱
سوپر اکسید دیسموتاز (U/ml)	۱۱۱/۷۲^{bc}	۱۰۳/۴۵^{c}	۱۳۴/۲^{a}	۱۱۶/۵^{b}	۱/۴۶	۰/۰۰۲۴

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

۲- CON: گروه شاهد (مصرف کننده جیره پایه بدون مکمل سلنیوم و یا تجویز دگزامتازون)، DEX: گروه مصرف‌کننده جیره پایه همراه با تجویز دگزامتازون، $DEX_{(OSe)}$: گروه دریافت کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلنیوم آلی و $DEX_{(ISe)}$: گروه دریافت کننده دگزامتازون همراه با مصرف جیره حاوی سلنیوم معدنی.

تزریق دگزامتازون سبب ایجاد تنش اکسیداتیو شده که منجر به کاهش تحرک اسپرم و فرآسنجه‌های 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 بر بهبود فرآسنجه‌های 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.

منابع

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. Badade, Z., K. More and J. Narshetty. 2011. Oxidative stress adversely affects spermatogenesis in male infertility. Biomedical Research, 22(3): 319-322.
6. 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.
7. 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.
8. Burrows, W. and J. Quinn. 1937. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. Poultry Science, 16: 19-24.
9. 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.
10. 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.
11. 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.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from rap.sanru.ac.ir at 9:17 +0430 on Saturday April 10th 2021

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 mobility 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.

www.SID.ir

Archive of SID

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.

Downloaded from rap.sanru.ac.ir at 9:17 +0430 on Saturday April 10th 2021

www.SID.ir

Archive of SID

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[1], Amir Karimi[2], Zabihullah Nemati[3] and Maghsoud Besharati3[3]

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) $DEX_{(OSe)}$ 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) $DEX_{(ISe)}$ 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 Beltsvile 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 ($DEX_{(OSe)}$) improved total and progressive motility versus other experimental groups ($P<0.05$); although, $DEX_{(OSe)}$ was not statistically different with CON in progressive motility ($P>0.05$). Also, the addition of inorganic selenium in the diet of stressed birds ($DEX_{(ISe)}$) 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 $DEX_{(OSe)}$ 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

Downloaded from rap.sanru.ac.ir at 9:17 +0430 on Saturday April 10th 2021

www.SID.ir