



## Original Research Paper

## The effects of different selenium sources on semen quality of aged broilers under lipopolysaccharide (LPS) stress

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

<sup>1</sup> Department of Animal Science, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

<sup>2</sup> Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran

<sup>3</sup> Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran

<sup>4</sup> Department of Immunology, Faculty of Medical Science, Golestan University of Medical Science, Gorgan, Iran

### Key Words

Rooster  
Selenium  
Testosterone  
Semen  
lipopolysaccharide

### Abstract

**Introduction:** Selenium, a vital element in the body, plays a crucial role in the functioning of enzymes related to antioxidant defense, fertility, and the immune system. This study seeks to explore how various selenium sources impact the semen quality of aging broilers under lipopolysaccharide stress (LPS).

**Materials & Methods:** A 2×3 factorial experiment involved 96 Ross 308 strain roosters at 45 weeks of age, organized into four replications of three birds each. The experiment included three selenium sources: mineral selenium (sodium selenite), organic selenium, and nano-bio chelate of selenium, added to the diet. Semen was assessed before LPS injection and after the final LPS injection at the experiment's conclusion. Evaluation indicators comprised malondialdehyde (MDA) concentration in semen, total oxidative capacity, glutathione peroxidase activity in semen, and testosterone levels in blood plasma. Statistical analysis utilized SAS 9.4 through GLM or MIXED procedures.

**Results:** The total antioxidant capacity and glutathione peroxidase activity levels exhibited variations among the groups. Specifically, in the LPS-receiving group, the control group demonstrated significantly lower total antioxidant capacity compared to the Selmax and Bendacel groups that received PBS. Additionally, the control group exhibited lower glutathione peroxidase activity compared to the Selmax group that received PBS, although no differences were observed between this group and others. Moreover, the Selmax group that received PBS displayed the lowest amount of MDA, a significant difference from the control and sodium selenite groups that received LPS. Notably, the testosterone concentration in birds that received Bendacel and sodium selenite, and were challenged with PBS, was significantly higher than in birds that received LPS without any source of selenium.

**Conclusion:** The study demonstrated that using organic selenium from Selmax and Bendacel sources has the potential to enhance the reproductive performance of aged roosters, mitigating the adverse effects of aging. Notably, the effective addition of 0.30 mg/kg of organic selenium emerged as a positive intervention in improving reproductive outcomes in the study's context.

\* Corresponding Author's email: [hashemi711@yahoo.co.uk](mailto:hashemi711@yahoo.co.uk)

Received: 29 July 2023; Reviewed: 31 August 2023; Revised: 2 November 2023; Accepted: 3 December 2023

(DOI): [10.22034/AEJ.2023.423415.3053](https://doi.org/10.22034/AEJ.2023.423415.3053)

## مقاله پژوهشی

## تأثیر منابع مختلف سلنیوم بر فراسنجه‌های منی خروس‌های مادر گوشتی مسن تحت چالش ایمونولوژیک لیپوپلی ساکارید (LPS)

مرتضی اصغری مقدم<sup>۱</sup>، سیدرضا هاشمی\*<sup>۱</sup>، مهران مهری<sup>۲</sup>، امیر کرم‌زاده‌دهاقانی<sup>۳</sup>، هما داوودی<sup>۴</sup><sup>۱</sup> گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران<sup>۲</sup> گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران<sup>۳</sup> گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران<sup>۴</sup> گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

## کلمات کلیدی

## چکیده

خروس

سلنیوم

تستوسترون

منی

لیپوپلی ساکارید

**مقدمه:** سلنیوم به‌عنوان جزئی از آنزیم‌هایی مانند گلوکوتاتیون پراکسیدازها و سلنوپروتئین‌ها، نقش کلیدی در بسیاری از فرآیندهای بیولوژی نظیر سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی، باروری و عملکرد سیستم ایمنی دارد. لذا این پژوهش به‌منظور تأثیر منابع مختلف سلنیوم بر فراسنجه‌های منی خروس‌های مادر گوشتی مسن تحت چالش ایمونولوژیک لیپوپلی ساکارید (LPS) انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** پژوهش حاضر با استفاده از ۹۶ قطعه خروس مادر گوشتی راس ۳۰۸ و سن ۴۵ هفته در قالب آزمایش فاکتوریل ۳×۲ با ۸ گروه آزمایشی و با ۴ تکرار و ۳ پرند در هر تکرار انجام شد. سه منبع مختلف سلنیوم شامل سلنیوم معدنی (سلنیت سدیم)، سلنیوم آلی (سلمکس) و نانو بایوکیلات سلنیوم (بن‌داسل) به جیره افزوده شدند. در زمان صفر قبل از تزریق و پس از آخرین تزریق LPS در پایان آزمایش، انزال خروس‌های هر تکرار جمع‌آوری و مورد ارزیابی قرار گرفت. شاخصه‌های مورد ارزیابی شامل میزان MDA منی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز پلاسمای منی و غلظت تستوسترون در پلاسمای خون بود. تجزیه و تحلیل داده‌های پیوسته حاصل با استفاده از رویه‌های GLM و MIXED و نرم‌افزار SAS 9.4 (۲۰۱۲) انجام شد.

**نتایج:** ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در گروه شاهد دریافت‌کننده لیپوپلی ساکارید (LPS) به‌طور معنی‌داری کم‌تر از گروه‌های سلمکس و بن‌داسل دریافت‌کننده PBS بود، اما با سایر گروه‌ها تفاوتی نداشت ( $P>0/05$ ). فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز در گروه شاهد دریافت‌کننده LPS نسبت به گروه سلمکس دریافت‌کننده PBS کم‌تر بود اما با سایر گروه‌ها تفاوتی مشاهده نشد و کم‌ترین مقدار MDA در گروه سلمکس دریافت‌کننده PBS مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با گروه‌های شاهد و سلنیت سدیم دریافت‌کننده LPS داشت. غلظت تستوسترون در گروه‌های بن‌داسل و سلنیت سدیم دریافت‌کننده PBS به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد دریافت‌کننده LPS بود، اما بین سایر تیمارها تفاوتی مشاهده نشد.

**بحث و نتیجه‌گیری:** براساس نتایج حاصل از این پژوهش، به‌نظر می‌رسد افزودن سلنیوم آلی از منابع سلمکس و بن‌داسل و به‌مقدار ۰/۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌تواند اثرات منفی افزایش سن در خروس‌ها کاهش و موجب بهبود عملکرد تولیدمثلی شود.

## مقدمه

می‌شود. لذا برای جلوگیری از فرآیندهای التهابی از ترکیباتی نظیر سلنیوم می‌توان استفاده کرد. بنابراین، با توجه به اهمیت سلنیوم، وجود تفاوت در زیست‌فراهمی اشکال مختلف این عنصر و تأثیر آن‌ها بر عملکرد پرند، هدف از این پژوهش مطالعه تأثیر منابع مختلف سلنیوم بر فراسنجه‌های منی و غلظت تستوسترون پلاسمای خون خروس‌های مادر گوشتی مسن تحت چالش ایمونولوژیک لیپوپلی ساکارید LPS است.

## مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر با استفاده از ۹۶ قطعه خروس مادر گوشتی راس ۳۰۸ با میانگین وزن  $5187/17 \pm 92/99$  گرم و سن ۴۵ هفته در قالب آزمایش فاکتوریل  $3 \times 2$  با ۸ گروه آزمایشی و با ۴ تکرار و ۳ پرند در هر تکرار انجام شد. برنامه نوری نیز به صورت ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت خاموشی اعمال گردید و دمای سالن در محدوده ۲۱ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. سه منبع مختلف سلنیوم شامل سلنیوم معدنی (سلنیت سدیم)، سلنیوم آلی (سلمکس) و نانو بایوکیلات سلنیوم (بن‌داسل) 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 هفتهگی اعمال شد. لازم به ذکر است که جیره پایه (جدول ۱)، فاقد مکمل سلنیوم بوده و سایر نیازهای غذایی مطابق جدول استاندارد احتیاجات غذایی خروس مادر گوشتی تنظیم گردید. تیمارهای آزمایشی به مدت ۲۰ روز اعمال شد و در ادامه خروس‌ها تحت چالش LPS قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی به شرح زیر می‌باشند: گروه شاهد منفی: تغذیه خروس‌ها با جیره پایه و تزریق بافر فسفات سالیین (PBS)، گروه شاهد مثبت: تغذیه خروس‌ها با جیره نرمال و تزریق LPS، گروه سلنیت سدیم بدون چالش LPS: تغذیه خروس‌ها با جیره پایه غنی شده با  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم و تزریق PBS، گروه سلنیت سدیم با چالش LPS: تغذیه خروس‌ها با جیره پایه غنی شده با  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیت سدیم و تزریق LPS، گروه سلمکس بدون چالش LPS: تغذیه خروس‌ها با جیره پایه غنی شده با  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس و تزریق PBS، گروه سلمکس با چالش LPS: تغذیه خروس‌ها با جیره پایه غنی شده با  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم سلمکس و تزریق LPS، گروه بن‌داسل بدون چالش LPS: تغذیه خروس‌ها با جیره پایه غنی شده با  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم بن‌داسل و تزریق PBS، گروه بن‌داسل با چالش LPS: تغذیه خروس‌ها با جیره پایه غنی شده با  $0/30$  میلی‌گرم در کیلوگرم بن‌داسل و تزریق LPS

حساسیت طیور به تنش یک مشکل اصلی در صنعت مرغداری می‌باشد. در شرایط مزرعه‌ای، پرندگان اغلب در معرض عوامل تنش‌زای محیطی، مدیریتی، شیمیایی و تغذیه‌ای قرار دارند که می‌توانند تولید رادیکال‌های آزاد را که به‌عنوان یک عامل در کاهش باروری و عملکرد تولیدمثلی در بدن است، افزایش دهند (۱). کاهش عملکرد تولیدمثلی در خروس‌های مادر گوشتی با افزایش سن، یک مشکل چندعاملی است و برخی از این عوامل عبارتند از: وزن بیش از حد، مشکلات حرکتی، کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، اختلال در عملکرد سلول‌های سرتولی و به‌دنبال آن کاهش محافظت اسپرماتوزوآ در لوله‌های منی‌ساز (Semiferous Tubule)، کاهش غلظت اسپرم در منی، کاهش ساخت و رهاسازی LH و FSH هیپوفیز از طریق اختلال در ترشح GnRH در هیپوتالاموس است (۲، ۳، ۴). افزایش تنش آکسیداتیو از طریق کاهش تولید تستوسترون، تشکیل سلول‌های سرتولی و برهم‌زدن سد خونی-بیضه‌ای، فرآیند اسپرم‌سازی را مختل کرده و در نهایت موجب کاهش شمار اسپرم‌های اپیدیدم و باروری می‌شود (۵). بنابراین، به‌کارگیری راهکارهای افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برای کاهش تنش آکسیداتیو، بهبود اسپرم‌سازی، جلوگیری از آسیب به اسپرم و افزایش باروری خروس‌های مسن ضروری است. تغذیه تأثیر زیادی بر کیفیت و کمیت اسپرم دارد و از این‌رو غنی‌سازی جیره با ترکیباتی چند عملکردی، یکی از راهکارهای مقابله با کاهش باروری در خروس‌های مسن است (۶). سلنیوم به‌عنوان جزئی از آنزیم‌هایی مانند گلوکوتیون پراکسیدازها و سونوپروتئین‌ها، نقش کلیدی در بسیاری از فرآیندهای بیولوژی نظیر سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی، باروری، متابولیسم تیروئید و عملکرد سیستم ایمنی دارد (۷). برخی مطالعات نشان می‌دهند که سلنیوم می‌تواند شانس باروری و تعداد سلول‌های سرتولی را افزایش دهد (۷، ۸). لذا به‌نظر می‌رسد مکمل‌سازی سلنیوم در جیره خروس‌ها، روند کاهش باروری در اثر افزایش سن را کاهش دهد. مطالعات نشان می‌دهد که اثرات مکمل‌سازی سلنیوم متفاوت است و شدیداً تحت تأثیر منبع و مقدار سلنیوم جیره قرار دارد (۹، ۱۰). از سوی دیگر گزارش شده است که افزایش سن با تغییرات شکر در عملکرد سیستم ایمنی و افزایش تولید نشانگرهای التهابی و اختلال در تنظیم آن‌ها همراه است (۱۱) لیپوپلی ساکاریدها (LPS) یکی از اجزای مهم در ساختار دیواره باکتری‌های گرم منفی است که خاصیت بیماری‌زایی داشته و به‌عنوان یک توکسین باکتریایی به‌شمار می‌رود و پاسخ‌های ایمنی شدیدی را ایجاد می‌کنند. تزریق LPS به‌عنوان یک مُدل خوب برای مطالعه التهاب سیستمی و اثرات آن استفاده

تزریق LPS در پایان آزمایش، انزال خروس‌های هر تکرار جمع‌آوری و مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌منظور 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. هم‌چنین، جهت رقیق کردن منی برای بررسی شاخص‌های کیفی اسپرم، از رقیق‌کننده بلستویل تعدیل یافته استفاده شد (جدول ۲).

جدول ۲: ترکیبات رقیق‌کننده بلستویل تعدیل یافته

مقدار	ترکیب شیمیایی
۷/۵۹ گرم در لیتر	دی پتاسیم فسفات
۸/۶۷ گرم در لیتر	سدیم گلوتامات
۵ گرم در لیتر	فروکتوز
۳/۲ گرم در لیتر	سدیم استات
۳/۲ گرم در لیتر	تریس
۰/۶۴ گرم در لیتر	پتاسیم سیترات
۰/۷۰ گرم در لیتر	مونو پتاسیم فسفات
۰/۳۴ گرم در لیتر	کلراید منیزیم
۳ درصد	گلیسرول
۰/۵۰ درصد	لسیتین

تمامی مواد از شرکت مرک آلمان تهیه شده بود.

شاخصه‌هایی که در طول آزمایش مورد ارزیابی قرار گرفتند، شامل میزان MDA منی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز پلاسما منی و غلظت تستوسترون در پلاسما خون بود. به‌منظور بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و گلوکوتاتیون پراکسیداز در پلاسما منی، منی با نیروی ۱۵۰۰ جی به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، بلافاصله قسمت بالایی مایع منی برداشته و تا زمان بررسی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل براساس روش Ferric (FRAP) Reduction Antioxidant Power (توانایی احیاء‌کنندگی آهن فریک توسط قدرت آنتی‌اکسیدانی) و فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز براساس روش نشانگر مقدار NADPH مصرف شده در مایع منی با استفاده از کیت‌های تجاری نوند سلامت و مطابق دستورالعمل سازنده و با کمک دستگاه الایزا ریدر (Bio Tek Model ELx800; 340-750nm, Instruments, USA) مورد ارزیابی و سنجش قرار گرفتند (۱۵، ۱۶). نتایج ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل به صورت nmol/L و نتایج میزان فعالیت گلوکوتاتیون پراکسیداز به صورت mU/mL بیان شد. برای سنجش پراکسیداسیون لیپید از کیت Nalondi شرکت نوند سلامت استفاده شد که روشی ساده، تکرارپذیر و استاندارد برای اندازه‌گیری میزان MDA و آگاهی از پراکسیداسیون لیپید در نمونه‌های بیولوژیکی است (۱۵). در این روش، MDA با تیوباربیتوریک اسید (TBA) در دمای

جدول ۱: ترکیب جیره پایه و مواد مغذی خروس‌های مادر گوشتی

مقدار (%)	مواد خوراکی
۶۵/۴۲	ذرت
۶/۵۰	کنجاله سویا (۴۲/۱۶٪)
۲۳/۸۰	سیوس گندم
۱/۰۰	روغن ذرت
۱/۳۰	دی کلسیم فسفات
۰/۹۴	صدف
۰/۱۰	جوش شیرین
۰/۳۲	نمک طعام
۰/۲۵	مکمل معدنی <sup>۱</sup>
۰/۲۵	مکمل ویتامینی <sup>۲</sup>
۰/۱۲	دی-ال-متیونین (۹۹٪)
۱۰۰	مجموع
ترکیب مواد مغذی	
۲۷۰۰	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم)
۱۱/۵۴	پروتئین خام٪
۰/۷۳	کلسیم٪
۰/۳۴	فسفر قابل دسترس٪
۰/۱۷	سدیم٪
۰/۳۱	متیونین٪

جیره بر اساس احتیاجات خروس‌های مادرگوشتی راس ۳۰۸ فرموله گردیده است. 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 D3 ۳۵۰۰ IU، ویتامین E (دی‌ال-آلفا-توکوفرول استات) ۱۰۰ IU، ریوفلاوین ۱۲ میلی‌گرم، نیاسین ۵۰ میلی‌گرم، پنتوتینیک اسید ۱۳ میلی‌گرم، پیریدوکسین (پیریدوکسین هیدروکلراید) ۶ میلی‌گرم، فولیک اسید ۲ میلی‌گرم، کوبالامین ۰/۰۳ میلی‌گرم، بیوتین ۰/۶۶ میلی‌گرم.

در این آزمایش، خروس‌ها با دریافت LPS به مقدار ۰/۵ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت درون سیاهرگی تحت چالش ایمنی قرار گرفتند (سه تزریق به فواصل یک روز). هم‌چنین، گروه‌های شاهد منفی و بدون چالش، ۰/۵ میلی‌لیتر PBS استریل به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند. محلول LPS تزریقی از انحلال ۷۵ میلی‌گرم پودر LPS (مشقت شده از سالمونلا تیفی‌موریوم، L6511، سیگما) در ۷۵ میلی‌لیتر PBS استریل تا رسیدن به غلظت ۱ mg/mL تهیه شد. دوز و نحوه تزریق LPS براساس منابع انتخاب شد (۱۲، ۱۳، ۱۴). در زمان صفر قبل از تزریق و پس از آخرین

بالا، واکنش داده و محصول صورتی رنگی تولید می‌کند که با روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد. نتایج میزان MDA به صورت nmol/ml بیان شد. در ابتدا و انتهای آزمایش، از هر تکرار دو خروس به‌طور تصادفی انتخاب شد 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 و تا زمان بررسی سطح تستوسترون در میکروتیوب‌ها در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شد. غلظت تستوسترون پلاسماهای خون خروس‌ها با استفاده از کیت تجاری الیزا مونوباند آمریکا (Monobind Inc., Costa Mesa, CA, USA) و طبق راهنمای کیت مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۶).

**تجزیه و تحلیل آماری:** پژوهش حاضر با استفاده از ۹۶ قطعه خروس مادر گوشتی در قالب آزمایش فاکتوریل ۳×۲ با ۸ گروه آزمایشی و با ۴ تکرار و ۳ پرند در هر تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌های پیوسته حاصل با استفاده از رویه‌های GLM و MIXED و نرم‌افزار SAS 9.4 (۲۰۱۲) انجام شد. میانگین‌ها به صورت میانگین حداقل مربعات (LSmeans) گزارش شده و به وسیله آزمون توکی در سطح معنی‌داری 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:

معادله آزمایش اول:

$$y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + \delta(ij)k + e_{ijk}$$

که در آن  $y_{ijk}$  مشاهده Kام منبع ام در سطح زام؛  $\mu$  میانگین جامعه؛  $A_i$  اثر منبع سلنیوم،  $B_j$  اثر سطح سلنیوم،  $\delta(ij)k$  اثر تصادفی پرند و  $e_{ijk}$  اثر باقی‌مانده یا اشتباه آزمایشی است.

معادله آزمایش دوم:

$$y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + \delta(ij)k + Tl + ABij + ABTijl + e_{ijkl}$$

که در آن  $y_{ijkl}$  مشاهده Kام منبع ام در LPS زام و زمان ام؛  $\mu$  میانگین جامعه؛  $A_i$  اثر سلنیوم،  $B_j$  اثر LPS،  $\delta(ij)k$  اثر تصادفی پرند،  $Tl$  اثر زمان ام،  $ABij$  برهم‌کنش منبع سلنیوم و LPS،  $ABTijl$  برهم‌کنش منبع سلنیوم و LPS در زمان و  $e_{ijkl}$  اثر باقی‌مانده یا اشتباه آزمایشی است.

## نتایج

تأثیر منابع مختلف سلنیوم بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، فعالیت گلوکوتائون پراکسیداز و پراکسیداسیون لیپیدمینی و غلظت تستوسترون

جدول ۳: تأثیر منابع مختلف سلنیوم بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و پراکسیداسیون لیپید منی و غلظت تستوسترون خون خروس‌های مادر گوشتی مسن تحت شرایط چالش ایمونولوژیک LPS (LSmeans±SEM)

تستوسترون (ng/mL)	MDA (nmol/mL)	GPx (mU/mL)	ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (mmol/L Fe2+)	تیمار
۳/۵۲ <sup>ab</sup>	۳/۱۰ <sup>abc</sup>	۲۴/۴۹ <sup>ab</sup>	۳/۴۵ <sup>ab</sup>	PBS
۳/۱۳ <sup>b</sup>	۳/۵۸ <sup>a</sup>	۲۳/۰۵ <sup>b</sup>	۲/۸۰ <sup>b</sup>	LPS
۳/۶۹ <sup>a</sup>	۳/۰۲ <sup>bc</sup>	۲۶/۱۸ <sup>ab</sup>	۳/۶۱ <sup>ab</sup>	PBS
۳/۲۹ <sup>ab</sup>	۳/۴۱ <sup>ab</sup>	۲۳/۹۴ <sup>ab</sup>	۳/۴۶ <sup>ab</sup>	LPS
۳/۶۳ <sup>ab</sup>	۲/۸۱ <sup>c</sup>	۲۸/۲۴ <sup>a</sup>	۳/۸۶ <sup>a</sup>	PBS
۳/۵۰ <sup>ab</sup>	۳/۱۸ <sup>abc</sup>	۲۵/۷۳ <sup>ab</sup>	۳/۴۸ <sup>ab</sup>	LPS
۳/۶۹ <sup>a</sup>	۲/۹۱ <sup>bc</sup>	۲۷/۳۹ <sup>ab</sup>	۴/۰۷ <sup>a</sup>	PBS
۳/۵۱ <sup>ab</sup>	۳/۳۱ <sup>abc</sup>	۲۷/۸۲ <sup>ab</sup>	۳/۵۵ <sup>ab</sup>	LPS
۰/۱۳	۰/۱۲	۱/۱۷	۰/۲۲	SEM
۰/۰۳	۰/۰۰۷	۰/۰۲	۰/۰۱	P-Value

a-c میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

جدول ۴: تأثیر منابع مختلف سلنیوم بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و پراکسیداسیون لیپید منی و غلظت تستوسترون پلاسمای خون خروس‌های مادر گوشتی مسن در اولین و آخرین تزریق LPS (LSmeans±SEM)

تستوسترون (ng/mL)	MDA (nmol/mL)	GPx (mU/mL)	ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (mmol/L Fe2+)	تیمار
				اولین تزریق
۳/۶۰	۲/۹۸	۲۵/۶۰	۳/۶۶	PBS
۳/۷۰	۳/۰۲	۲۷/۵۲	۳/۸۰	LPS
۳/۷۳	۳/۱۷	۲۶/۹۳	۳/۵۵	PBS
۳/۶۳	۳/۱۵	۲۶/۸۲	۳/۹۹	LPS
۳/۵۸	۳/۳۰	۲۶/۵۸	۳/۸۴	PBS
۳/۵۸	۲/۹۶	۲۶/۰۸	۳/۵۹	LPS
۳/۶۲	۲/۹۶	۲۶/۸۹	۳/۹۷	PBS
۳/۷۰	۳/۲۶	۲۸/۶۶	۳/۶۲	LPS
				آخرین تزریق
۳/۴۳ <sup>ab</sup>	۳/۲۳ <sup>b</sup>	۲۳/۳۷ <sup>abc</sup>	۳/۲۴ <sup>ab</sup>	PBS
۲/۵۷ <sup>b</sup>	۴/۱۵ <sup>a</sup>	۱۸/۵۸ <sup>c</sup>	۱/۷۹ <sup>b</sup>	LPS
۳/۶۵ <sup>a</sup>	۲/۸۷ <sup>bc</sup>	۲۵/۴۴ <sup>abc</sup>	۳/۶۸ <sup>a</sup>	PBS
۲/۹۴ <sup>ab</sup>	۳/۶۶ <sup>ab</sup>	۲۱/۰۵ <sup>bc</sup>	۲/۹۳ <sup>ab</sup>	LPS
۳/۶۸ <sup>a</sup>	۲/۳۲ <sup>c</sup>	۲۹/۹۰ <sup>a</sup>	۳/۸۹ <sup>a</sup>	PBS
۳/۴۳ <sup>ab</sup>	۳/۴۱ <sup>ab</sup>	۲۵/۳۹ <sup>abc</sup>	۳/۳۷ <sup>ab</sup>	LPS
۳/۷۶ <sup>a</sup>	۲/۸۶ <sup>bc</sup>	۲۷/۸۹ <sup>ab</sup>	۴/۱۷ <sup>a</sup>	PBS
۳/۳۲ <sup>ab</sup>	۳/۳۷ <sup>ab</sup>	۲۶/۹۹ <sup>ab</sup>	۳/۴۹ <sup>a</sup>	LPS
۰/۱۸	۰/۱۷	۱/۶۵	۰/۳۲	SEM
۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	۰/۰۰۷	۰/۰۰۳	P-Value

a-c میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

## بحث

میتوکندری را در بخش میانی اسپرم بالغ تشکیل می‌دهد. در مراحل اولیه اسپرم‌سازی، اعتقاد بر این است که گلوپروتئین پراکسیداز ۴ از اسپرم در حال تکوین در برابر آسیب‌های ناشی از تنش آکسایشی محافظت می‌کند و در مراحل بعدی، این سلنوپروتئین از طریق پیوند متقابل با پروتئین‌های غنی از سیستئین و ایجاد یکپارچگی در بخش میانی اسپرم، به جزء ساختاری از غلاف میتوکندری اطراف تاژک تبدیل می‌شود (۲۱). لذا سلنیوم به واسطه نقشی که در سلنوپروتئین گلوپروتئین پراکسیداز ۴ و سایر سلنوپروتئین‌ها دارد، و همچنین به واسطه افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، احتمالاً موجب کاهش درصد اسپرهای نابهنجار در خروس‌های تحت چالش LPS می‌گردد. در شرایط نرمال، کاهشی در درصد اسپرهای نابهنجار با افزودن سلنیوم به جیره خروس‌ها در سایر مطالعات نیز گزارش شده است (۲۵، ۲۶، ۲۷). گزارش شده است که LPS موجب کاهش فعالیت گلوپروتئین پراکسیداز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۲۸، ۲۹) که هم‌سو با نتایج پژوهش حاضر است. گلوپروتئین پراکسیداز یک سلنوپروتئین است که نه تنها می‌تواند باعث احیای پراکسید هیدروژن شود، بلکه پراکسیدهای آلی، به خصوص پراکسیدهای لیپیدی، را با احیای گلوپروتئین، خنثی کند (۳۰). مطالعات بسیاری نشان دادند که سطح مشخصی از سلنیوم برای فعالیت گلوپروتئین پراکسیداز ضروری است (۳۱). در مطالعه حاضر، مکمل‌سازی سلنیوم آلی نسبت به سلنیوم معدنی، در خروس‌های تحت چالش LPS موجب بهبود فعالیت این آنزیم و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل شد. این تفاوت احتمالاً به دلیل لزوم احیای سلنیت به سلنید طی چندین گامه است، در حالی که تنها یک گامه برای احیای سلنیوم موجود در منابع آلی به سلنید لازم است (۳۲). بسیاری از سلنوپروتئین‌های دیگر مانند سلنوپروتئین H، سلنوپروتئین T، سلنوپروتئین V، سلنوپروتئین W و سلنوپروتئین P دارای دومین‌هایی تیوردوکسین مانند هستند که همگی نقش آنتی‌اکسیدانی دارند (۲۱). لذا افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل با افزودن سلنیوم آلی در پژوهش حاضر، می‌تواند با بهبود عملکرد یا افزایش این سلنوپروتئین‌ها مرتبط باشد. علاوه بر این، گزارش شده است که سلنیوم می‌تواند عملکرد سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز را افزایش دهد (۳۳). مشابه با نتایج پژوهش حاضر، بهبودی در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و فعالیت گلوپروتئین پراکسیداز با افزودن سلنیوم آلی به جیره خروس‌های تحت چالش دگزامتازون و موش‌های تحت چالش کادمیوم نشان داده شده است (۳، ۳۴). مالون‌دی‌آلدئید (MDH) محصول نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب است و لذا می‌تواند به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپید در نظر گرفته شده است که ارتباط منفی با باروری اسپرم دارد. همان‌طور که قبلاً بیان شد، پراکسیداسیون اسیدهای چرب بلند زنجیر (PUFA) در غشاهای

اسپرم‌ها به دلیل نیاز به سیالیت و انعطاف‌پذیری، دارای مقادیر زیادی اسیدهای چرب غیراشباع در غشای خود هستند و از طرف دیگر، کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل با افزایش سن یا تحریک سیستم ایمنی (LPS) موجب می‌شود آن‌ها در برابر حمله رادیکال‌های آزاد بسیار آسیب‌پذیر باشند (۱۷، ۱۸، ۱۹). با قرار گرفتن اسپرم در معرض بیش از حد رادیکال‌های آزاد، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا رخ می‌دهد که با اختلال در جنبایی، زنده‌مانی و عملکرد غشای پلاسمایی اسپرم همراه است. در این راستا، نشان داده شده است که رادیکال‌های آزاد تأثیر به شدت منفی بر جنبایی و درصد اسپرم‌های با غشای پلاسمایی سالم دارند و می‌توانند کیفیت اسپرم خروس را کاهش و توانایی باروری آن را کاهش دهند (۱۸). در گزارشی LPS با افزایش رادیکال‌های آزاد موجب پراکسیداسیون لیپیدهای اسپرم و اختلال در ساختار غشاء می‌شود که با از دست دادن جنبایی همراه است (۱۹). از طرفی نیز گزارش شده است که افزایش IL1 $\beta$  نیز با کاهش جنبایی اسپرم مرتبط است (۲۰). از سوی دیگر، اعتقاد بر این است که گلوپروتئین پرواکسیداز ۴ به عنوان یک سلنوپروتئین، از اسپرم‌های در حال تکوین در برابر آسیب DNA ناشی از تنش آکسایشی محافظت می‌کند و در مراحل بعدی، این سلنوپروتئین از طریق پیوند متقابل با پروتئین‌ها و ایجاد یکپارچگی در بخش میانی اسپرم، به جزء ساختاری از غلاف میتوکندری اطراف تاژک تبدیل می‌شود که برای ثبات و تحرک اسپرم ضروری است (۲۱). در مطالعه حاضر، سلنیوم آلی توانست در خروس‌های تحت چالش LPS باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، افزایش فعالیت گلوپروتئین پراکسیداز و کاهش پراکسیداسیون لیپید شود، در پژوهشی مکمل‌سازی سلنیوم آلی باعث بهبود درصد جنبایی، زنده‌مانی و عملکرد غشای پلاسمایی اسپرم در خروس‌های تحت چالش دگزامتازون شد (۳). گزارش شده است که کاهش جنبایی اسپرم به واسطه LPS با افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر گلوپروتئین، کاتالاز، الفاتوکوفرول و اسیداسکوربیک بهبود یافته است (۱۹) که هم‌سو با نتایج پژوهش حاضر است. در خروس‌های تحت تنش کادمیوم، بهبودی در جنبایی اسپرم با افزودن سلنیوم به جیره مشاهده شده است (۲۲). در مطالعه حاضر نشان داده شد که منابع آلی سلنیوم نسبت به منبع معدنی در بهبود کیفیت اسپرم موثرتر هستند، که احتمالاً به خاطر زیست‌فراهمی بیشتر تر شکل آلی سلنیوم می‌باشد. اخیراً گزارش شده است که مورفولوژی اسپرم با فعالیت گلوپروتئین پراکسیداز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمای منی ارتباط مثبتی دارد (۲۳، ۲۴). هم‌چنین، شواهدی وجود دارد که گلوپروتئین پراکسیداز ۴، بیش از ۵۰ درصد کپسول

- Pakistan Veterinary Journal. 40(1).
6. **Belloni, V., Sorci, G., Paccagnini, E., Guerreiro, R., Bellenger, J. and Faivre, B., 2014.** Disrupting immune regulation incurs transient costs in male reproductive function. *PLoS One*. 9(1): e84606.
  7. **Bowling, M., Forder, R., Hughes, R.J., Weaver, S. and Hynd, P.I., 2018.** Effect of restricted feed intake in broiler breeder hens on their stress levels and the growth and immunology of their offspring. *Translational Animal Science*. 2(3): 263-271.
  8. **Bacou, E., Walk, C., Rider, S., Litta, G. and Perez-Calvo, E., 2021.** Dietary oxidative distress: a review of nutritional challenges as models for poultry, Swine and Fish. *Antioxidants*. 10(4): 525.
  9. **Casebere, K.R., Kaiser, M.G. and Lamont, S.J., 2015.** Bacterial Component Induced Inflammatory Response in Roosters from Diverse Genetic Lines. *Iowa State University Animal Industry Report*. 12(1).
  10. **Crisol, L., Matorras, R., Aspichueta, F., Expósito, A., Hernández, M.L. and Ruiz-Larrea, M.B., 2012.** Glutathione peroxidase activity in seminal plasma and its relationship to classical sperm parameters and in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection outcome. *Fertility and Sterility*. 97(4): 852-857.
  11. **Chauchu-Noo, N., Thananurak, P., Boonkum, W., Vongpralub, T. and Chankitisakul, V., 2021.** Effect of organic selenium dietary supplementation on quality and fertility of cryopreserved chicken sperm. *Cryobiology*. 98: 57-62.
  12. **Dalgaard, T.S., Briens, M., Engberg, R.M. and Lauridsen, C., 2018.** The influence of selenium and selenoproteins on immune responses of poultry and pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 238: 73-83.
  13. **Dalia, A.M., Loh, T.C., Sazili, A.Q., Jahromi, M.F. and 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*. 4(1): 1-10.
  14. **Dutta, S., Sengupta, P., Slama, P. and Roychoudhury, S., 2021.** Oxidative stress, testicular inflammatory pathways, and male reproduction. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(18): 10043.
  15. **Eroglu, M., Sahin, S., Durukan, B., Ozakpinar, O.B., Erdinc, N. and Turkgeldi, L., 2014.** Blood serum and seminal plasma selenium, total antioxidant capacity and coenzyme q10 levels in relation to semen parameters in men with idiopathic infertility. *Biological Trace Element Research*. 159: 46-51.
  16. **Gholami-Ahangaran, M., Karimi-Dehkordi, M., Akbari Javar, A., Haj Salehi, M. and 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.
  17. **Gibb, Z., Blanco-Prieto, O. and Bucci, D., 2021.** The role of endogenous antioxidants in male animal fertility. *Research in Veterinary Science*. 136: 495-502.
  18. **Huang, Y., Li, W., Xu, D., Li, B., Tian, Y. and 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.
  19. **Ibrahim, D., Kishawy, A.T.Y., Khater, S.I., Hamed Arisha, A., Mohammed, H.A. and Abdelaziz, A.S., 2019.** Effect of dietary modulation of selenium form and level on performance, tissue retention, quality of frozen

سلولی اسپرم می‌تواند موجب افزایش MDA شود (۳۰). لذا کاهش پراکسیداسیون لیپید به‌واسطه مکمل‌سازی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی برای بهبود باروری ضروری است. نشان داده شده است که LPS به واسطه افزایش رادیکال‌های آزاد موجب پراکسیداسیون لیپیدهای اسپرم می‌شود (۱۹، ۲۹). هم‌چنین، گزارش شده است که میزان MDA پلاسما منی با فعالیت گلووتاتیون پراکسیداز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل رابطه منفی دارد (۳۰، ۳۵). نتایج این پژوهش نیز نشان داد که مکمل‌سازی سلنیوم موجب کاهش پراکسیداسیون لیپید القا شده توسط LPS می‌شود که احتمالاً به‌دلیل افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و فعالیت گلووتاتیون پراکسیداز است. در این پژوهش، مکمل‌سازی سلنیوم آلی به خروس‌های تحت چالش LPS، توانست از اثرات منفی LPS بر سطوح تستوسترون خون و غلظت اسپرم منی جلوگیری کند. به‌نظر می‌رسد سلنیوم آلی به‌واسطه زیست‌فراهمی بالاتر و احتمالاً از طریق اثرات ضدالتهابی (کاهش بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی)، آنتی‌اکسیدانی همان‌طور که در نتایج این مطالعه نشان داده شد، باعث بهبود محور HPG، تولید تستوسترون و اسپرم‌سازی شده است. هم‌چنین، گزارش شده است که مکمل‌سازی سلنیوم اثرات مثبتی بر تکوین سلول‌های سمنی‌فروس دارد و موجب افزایش زنده‌مانی سلول‌های سرتولی و کاهش آپوپتوز سلول‌های زایا می‌گردد که برآیند این اثرات بهبود تولید اسپرم است (۳۶، ۳۷، ۳۸). علاوه بر این، بیان شده است که فعال‌سازی TLR4 با مهار ساخت تستوسترون در سلول‌های لایدیگ از طریق افزایش بیان سایتوکاین‌های پیش‌التهابی همراه است (۳۹).

## منابع

1. **Ansari, M., Zhandi, M., Kohram, H., Zaghari, M., Sadeghi, M. and Gholami M., 2018.** d-Aspartate amends reproductive performance of aged roosters by changing gene expression and testicular histology. *Reproduction, Fertility and Development*. 30(7): 1038-1048.
2. **Ahsan, U., Kamran, Z., Raza, I., Ahmad, S., Babar, W. and Riaz, M.H., 2014.** Role of selenium in male reproduction-A review. *Animal Reproduction Science*. 146(1-2): 55-62.
3. **Shi, L., Zhang, C., Yue, W., Shi, L., Zhu, X. and Lei, F., 2010.** Short-term effect of dietary selenium-enriched yeast on semen parameters, antioxidant status and Se concentration in goat seminal plasma. *Animal Feed Science and Technology*. 157(1-2): 104-108.
4. **Alavi, M.H., Allymeh, M., Talebi, A. and Najafi, G., 2020.** Comparative effects of nano-selenium and sodium selenite supplementations on fertility in aged broiler breeder males. *Veterinary Research Forum*. 11(2): 135-141.
5. **Ashraf, S., Bhatti, S.A., Nawaz, H. and Khan, M.S., 2020.** Assessment of Dietary Selenium Sources in Commercial Male Broiler Breeders: Effects on Semen Quality, Antioxidant Status and Immune Responses.



- Impact of induced levels of specific free radicals and malondialdehyde on chicken semen quality and fertility. *Theriogenology*. 90: 11-19.
34. **Sharpe, R.M., McKinnell, C., Kivlin, C. and 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.
  35. **Shamiah, S.M., El-Karim, A., Ragaa, E., Eshera, A.A.M., Fouda, S.F. and 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.
  36. **Shakouri, N., Soleimanzadeh, A., Rakhshanpour, A. and 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.
  37. **Sharideh, H., Zeinoaldini, S., Zhandi, M., Zaghari, M., Sadeghi, M. and Akhlaghi, A., 2020.** Use of supplemental dietary coenzyme Q10 to improve testicular function and fertilization capacity in aged broiler breeder roosters. *Theriogenology*. 142: 355-362.
  38. **Urata, K., Narahara, H., Tanaka, Y., Egashira, T., Takayama, F. and Miyakawa, I., 2001.** Effect of endotoxin-induced reactive oxygen species on sperm motility. *Fertility and Sterility*. 76(1): 163-166.
  39. **Zhang, M., Nii, T., Isobe, N. and Yoshimura, Y., 2012.** Expression of Toll-like receptors and effects of lipopolysaccharide on the expression of proinflammatory cytokines and chemokine in the testis and epididymis of roosters. *Poultry Science*. 91(8): 1997-2003.
  20. **Kocak, I., Yenisey, C., DüNDAR, M., Okyay, P. and Serter, M., 2002.** Relationship between seminal plasma interleukin-6 and tumor necrosis factor  $\alpha$  levels with semen parameters in fertile and infertile men. *Urological Research*. 30: 263-267.
  21. **Khalid, A., Khudhair, N., He, H., Peng, Z., Yaguang, T. and 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.
  22. **Khalil-Khalili, A.A., Zhandi, M., Zaghari, M., Mehrabani-Yeganeh, H., Yousefi, A.R. and 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.
  23. **Li, K.X., Wang, J.S., Yuan, D., Zhao, R.X., Wang, Y.X. and 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.
  24. **Li, Y., Zhu, J., Liang, W., Cai, H., Shang, X. and Zhang, N., 2022.** Lycopene alleviates inflammatory explosion and oxidative stress in lipopolysaccharide induced reproductive system injury of male rats. *Research Square*.
  25. **Marettová, E., Mareta, M. and Legath, J., 2013.** Effect of Cd with or without Se supplementation on spermatogenesis and semen quality in the rooster (*Gallus gallus*). *Avian Biology Research*. 6(4): 275-280.
  26. **Namazi Zadegan, M.A., Kermanshahi, H. and Javadmanesh, A., 2022.** Evaluation of Antioxidant Enzymes Activity, Lipid Peroxidation and Sperm Quality in Broiler Breeder Roosters Fed Whey Protein and Sodium Selenite. *Poultry Science Journal*. 10(1): 129-138.
  27. **Partyka, A., Łukaszewicz, E. and Niżański W., 2012.** Lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in avian semen. *Animal Reproduction Science*. 134(3-4): 184-190.
  28. **Qazi, I.H., Angel, C., Yang, H., Zoidis, E., Pan, B. and Wu, Z., 2019.** Role of selenium and selenoproteins in male reproductive function: a review of past and present evidences. *Antioxidants*. 8(8): 268.
  29. **Raei, H., Torshizi, M.A.K., Sharafi, M. and Ahmadi, H., 2021.** Improving seminal quality and reproductive performance in male broiler breeder by supplementation of camphor. *Theriogenology*. 166: 1-8.
  30. **Ringuet, M.T., Hunne, B., Lenz, M. and Bravo, D.M. and Furness, J.B., 2021.** Analysis of bioavailability and induction of glutathione peroxidase by dietary nanoelemental, organic and inorganic selenium. *Nutrients*. 13(4): 1073.
  31. **Reddy, M.M., Mahipal, S.V.K., Subhashini, J., Reddy, M.C., Roy, K.R. and Reddy, G.V., 2006.** Bacterial lipopolysaccharide-induced oxidative stress in the impairment of steroidogenesis and spermatogenesis in rats. *Reproductive Toxicology*. 22(3): 493-500.
  32. **Ren, X.M., Wang, G.g., Xu, D.Q., Luo, K., Liu, Y.X. and Zhong, Y.H., 2012.** The protection of selenium on cadmium-induced inhibition of spermatogenesis via activating testosterone synthesis in mice. *Food and Chemical Toxicology*. 50(10): 3521-3529.
  33. **Rui, B.R., Shibuya, F.Y., Kawaoku, A.J.T., Losano, J.D.A., Angrimani, D.S.R. and Dalmazzo, A., 2017.**