Iranian Journal of Animal Science
Vol 53, No 2, Summer 2022 (69-79)
DOI: 10.22059/ijas.2021.326669.653837

علوم دامی ایران
دورهٔ ۵۳، شمارهٔ ۲، تابستان ۱۴۰۱ (ص ۷۹-۶۹)

مقاله پژوهشی:

اثر سطوح مختلف سلنیوم آلی بر فراسنجه‌های خونی خروس‌های تحت تنش دگزامتازون

علی اصغر خلیل خلیلی[۱]، مهدی ژندی[۲*]، مجتبی زاغری[۲]، حسن مهربانی یگانه[۳] و علیرضا یوسفی[٤]
۱، ۲ و ۳. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
٤. استادیار، بخش پاتولوژی و حیوانات تحت آزمایش، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
(تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/٤/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۹/۱٦)

چکیده

هدف پژوهش حاضر مطالعه اثر تغذیه سلنیوم آلی (oSe) بر فراسنجه‌های خونی خروس‌های مادر گوشتی تحت چالش با دگزامتازون (Dexa) بود. تعداد پنجاه قطعه خروس مادر گوشتی (سویه راس ۳۰۸) در سن ٦٤ هفتگی به‌طور تصادفی به ۵ گروه (۱۰ خروس در هر گروه) تقسیم شدند و طی ۱۰ هفته متوالی، با یک جیره خوراکی استاندارد حاوی سطوح مختلف سلنیوم آلی تغذیه شدند. به‌منظور القای تنش، تزریق دگزامتازون (۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) طی هفته‌های ٤ تا ٦ آزمایش به‌صورت یک روز در میان انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل جیره خوراکی فاقد مکمل سلنیوم آلی و دگزامتازون (شاهد منفی: NC) و یا با Dexa و سطوح مختلف سلنیوم آلی شامل صفر (شاهد مثبت؛ PC)، ۰/۱۵ (Se15+Dexa)، ۰/۳۰ (Se30+Dexa) یا ۰/٤۵ (Se45+Dexa) میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک بود. طی دوره آزمایش، غلظت تستوسترون، کورتیکوسترون، مالون‌دی‌آلدهید (MDA)، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC)، فعالیت آنزیم‌های کبدی (ALT و AST)، اسید اوریک، پروتئین تام، آلبومین، فراسنجه‌های چربی و گلوکز پلاسما هر دو هفته یک‌بار ارزیابی شدند. فعالیت آنزیم‌های کبدی و آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، TAC، غلظت اسید اوریک، پروتئین تام، آلبومین و گلوکز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. تزریق دگزامتازون غلظت پلاسمایی کلسترول تام، لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (HDL) و پایین (LDL) و MDA را در گروه PC نسبت به گروه NC افزایش داد (P<۰/۰۵)؛ با این حال، oSe این آثار منفی Dexa بهبود بخشید (P <۰/۰۵). به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که oSe آثار منفی Dexa بر برخی از فراسنجه‌های خونی در خروس‌های تحت تنش دگزامتازون را کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، تنش اکسیداتیو، هورمون، هیدروکسی سلنومتیونین.

The effect of different levels of organic selenium on blood parameters of roosters under dexamethasone stress

Ali Asghar Khalil-Khalili[1], Mahdi Zhandi[2*], Mojtaba Zaghari[2], Hassan Mehrabani-Yeganeh[3] and Ali Reza Yousefi[4]
1, 2, 3. M.Sc. Graduate, Professor and Associate Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
4. Assistant Professor, Department of Pathology and Experimental Animals, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
(Received: Jul. 11, 2021 - Accepted: Dec. 07, 2021)

ABSTRACT

The aim of the present study was to investigate the effect of dietary supplementation of organic selenium (oSe) on blood parameters of male broiler breeder under dexamethasone (Dexa) challange. Fifty broiler breeder roosters (Ross 308) at the age of 64 weeks were randomly allotted to five groups (10 roosters/group) and fed a standard diet supplemented with different levels of oSe during 10 successive weeks of the experimental period. To induce stress, dexamethasone (2 mg/kg body weight) was injected during weeks of 4 to 6 of the experiment, in one-day-interval manner. Experimental treatments including diet without oSe supplementation and Dexa treatments (negative control; NC), or treated with Dexa and different levels of oSe including 0 (positive control; PC), 0.15 (Se15+Dexa), 0.30 (Se30+Dexa) or 0.45 (Se45+Dexa) mg/kg of diet. During the experimental period, concentration of testosterone, corticosterone, malondialdehyde (MDA), total antioxidant capacity (TAC), hepatic enzymes activity (ALT and AST), uric acid, total protein, albumin, plasma lipid and glucose parameters, were evaluated every two weeks. Liver enzymes and glutathione peroxidase (GPX) activity, TAC, concentration of uric acid, total protein, albumin and glucose were not affected by the treatments. Dexamethasone injection increased plasma concentrations of total cholesterol, HDL, LDL and MDA in the PC group compared to the NC group (P<0.05). However, oSe ameliorated these negative impacts in dexamethasone-stressed roosters (P<0.05). Generally, the results of this study indicate that dietary inclusion of oSe mitigate the negative effects of Dexa on some blood parameters in roosters under dexamethasone challange.

Keywords: Antioxidant, Hormone, Hydroxy selenomethionine, Oxidative stress.

* Corresponding author E-mail: mzhandi@ut.ac.ir

مقدمه

افزایش سن گله به دلیل اهمیت تأثیر آن بر میزان باروری "از نظر اقتصادی" سنجه مهمی در گله‌های طیور به‌شمار می‌آید (Miazi *et al*., 2012). باروری خروس‌های گله‌های مادر گوشتی پس از سن ۴۰ تا ۴۵ هفتگی به سرعت کاهش می‌یابد؛ از این رو، خروس‌های جوان در محلی مجزا از گله اصلی پرورش داده شده و در زمان نیاز جایگزین خروس‌های پیر می‌شوند. این مسئله افزایش هزینه‌های تولید و همچنین احتمال انتقال آلودگی را در پی دارد (Baiomy *et al*., 2009). گفته می‌شود، عوامل مختلف وابسته به سن مانند تشدید تنش‌های اکسیداتیو ناشی از تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد در کاهش باروری خروس‌های مسن مؤثر هستند (Leeson & Summers, 2010).

تنش، باعث آزادشدن کورتیکوسترون و کاته‌کول‌آمین‌ها و افزایش سطح رادیکال‌های آزاد در بدن می‌شود که از این طریق پراکسیداسیون لیپیدی در غشای سلولی بافت‌های بدن افزایش می‌یابد (Sarabia Fragoso *et al*., 2013). همچنین تنش باعث افزایش ساخت پروتئین‌ها و چربی‌ها در سلول‌های کبدی و تولید سلنوپروتئین‌ها و انتقال آن‌ها به اندام‌های بدن برای مقابله با تنش اکسیداتیو می‌شود (Bansal & Bilaspuri, 2011). در صورت پایین بودن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن، تنش اکسیداتیو با تخریب بافت کبدی منجر به آزاد شدن آنزیم‌های کبدی به جریان خون، انسداد مجاری صفراوی کبد، کاهش ترشح کلسترول به دوازدهه و افزایش غلظت کلسترول و لیپوپروتئین‌های پلاسمای خون می‌شود (Sefi *et al*., 2011). فرآیند مقابله با تنش اکسیداتیو نیازمند انرژی است که از طریق تجزیه تری‌گلیسرید یا تولید گلوکز در کبد تامین می‌شود (Brennan *et al*., 2012; Luseba, 2013).

یکی از راه‌های جلوگیری از آثار مخرب تنش اکسیداتیو در طیور استفاده از ترکیبات و مواد معدنی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی در جیره است. سلنیوم (Se) به‌عنوان یک عنصر ضروری در تغذیه طیور شناخته می‌شود که بر عملکرد تولیدی و تولیدمثلی گله‌های مادر اثر شایانی دارد (Surai & Fisinin, 2014) و با مشارکت در ساختار سلنوپروتئین‌ها و چندین آنزیم حیاتی مانند آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، این عنصر خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی خود را اعمال می‌کند (Eid *et al*., 2006)؛ از این رو، سلنیوم آسیب‌های اکسیداتیو را کاهش می‌دهد (Surai, 2016; Surai, 2006). فقدان سلنیوم در جیره غذایی منجر به تولید هیدروپراکسیدهای لیپیدی در سلول‌ها می‌شود و به‌دنبال آن، به دیواره سلولی آسیب می‌رسد. نشان داده شده است که سلنیوم و ویتامین E از چربی‌های سازنده غشای سلول‌های جنسی محافظت می‌کنند (Brigelius-Flohé, 2006).

اگرچه سلنیوم به دو شکل آلی و معدنی مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما برخی از ویژگی‌های نامطلوب منابع غیرآلی سلنیوم، از جمله زیست‌فراهمی و بازدهی پایین، سمیت، پایداری ضعیف، فعل و انفعالات با سایر مواد معدنی و توانایی پایین در حفظ ذخایر سلنیوم بدن (Han *et al*., 2009)، باعث افزایش استقبال از سلنیوم آلی به‌عنوان مکمل غذایی شده است. یکی از مهم‌ترین منابع سلنیوم آلی مورد استفاده در تغذیه طیور، سلنومتیونین (SeMet) است، اما مقادیر خالص این محصول، ناپایدار است و به‌راحتی اکسید می‌شود. هیدروکسی سلنومتیونین (OH-SeMet یا 2-hydroxy-4-methylselenobutanoic acid) محصول ارتقایافته سلنیوم آلی است که با نام تجاری Selisseo شناخته می‌شود. در پژوهش‌های متعددی زیست‌فراهمی بالاتر سلنوآمینواسید در مقایسه با سایر فرم‌های آلی یا معدنی سلنیوم به تأیید رسیده است (Han *et al*., 2009; Couloigner *et al*., 2015; Jlali *et al*., 2013). بر اساس اطلاعات موجود، اعمال یک رژیم غذایی حاوی سلنیوم می‌تواند از طریق خواص آنتی‌اکسیدانی و کاهش سطح اکسیداسیون در سلول‌های جنسی، عملکرد تولیدمثلی پرندگان را در سنین بالا بهبود بخشد (Khalil-Khalili *et al*., 2021).

خون راه ارتباطی سلول‌های بدن برای تامین نیازها، حفظ شرایط پایدار حیوان و ادامه حیات است. به‌طور معمول، فراسنجه‌های اثرگذار بر سلول‌های بدن به‌واسطه تغییر غلظت هورمون‌ها و متابولیت‌های خونی، رخدادهای

درونی بدن را در اندام‌ها و بافت‌ها بروز می‌دهند. بنابراین شناخت نحوه و میزان تأثیر عوامل مخرب سلولی در درک هرچه بهتر راه‌های جلوگیری از آسیب‌های سلولی ناشی از افزایش سن کمک شایانی خواهد کرد. از آنجایی که، تاکنون اطلاعات جامعی در مورد نحوه تأثیر تغذیه طولانی‌مدت با رژیم غذایی حاوی مکمل سلنیوم آلی بر غلظت متابولیت‌های خونی خروس‌ها تحت القای تنش حاد گزارش نشده است؛ این پژوهش به‌منظور مطالعه نقش تغذیه طولانی‌مدت مکمل غذایی حاوی سلنیوم آلی بر فراسنجه‌های خونی خروس‌های گله مرغ مادر گوشتی تحت تنش ناشی از تزریق دگزامتازون انجام شد.

مواد و روش‌ها

تمام مراحل انجام‌شده روی خروس‌ها با رعایت اصول حمایت از حقوق حیوانات اجرا شد.

گروه‌های آزمایشی و نمونه‌گیری‌ها

تعداد پنجاه قطعه خروس گله مرغ مادر گوشتی سویه راس ۳۰۸ بالغ (با وزن ۹۲/۹۹±۵۴۴۵/۶۶ گرم) در سن ۶۴ هفتگی از یک گله تجاری انتخاب و به‌صورت انفرادی روی بستر قفس‌بندی‌شده (۱/۲۵ متر × ۱/۲۵ متر) در شرایط محیطی استاندارد (دوره نوری ۱۵ ساعت روشنایی و ۹ ساعت خاموشی و دمای ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. پیش از آغاز آزمایش، خروس‌ها به مدت دو هفته (سن ۶۴ و ۶۵ هفتگی) با شرایط آزمایش عادت‌دهی شدند. سپس خروس‌ها به‌طور تصادفی به پنج گروه آزمایشی (۱۰ خروس در هر گروه) تقسیم شدند. تیمارهای آزمایش شامل گروه فاقد تزریق دگزامتازون و مکمل خوراکی سلنیوم (شاهد منفی: NC) یا با تزریق دگزامتازون (Dexa) و سطوح صفر (شاهد مثبت: PC)، ۰/۱۵ (Se15+Dexa)، ۰/۳۰ (Se30+Dexa) و ۰/۴۵ (Se45+Dexa) میلی‌گرم سلنیوم آلی (oSe) در هر کیلوگرم خوراک بود.

سلنیوم مورد استفاده در این پژوهش، هیدروکسی سلنومتیونین (OH-SeMet) با نام تجاری Selisseo® (SO) و تولیدشده توسط شرکت فرانسوی Adisseo بود. در این مطالعه، هیدروکسی سلنومتیونین، به‌عنوان منبع oSe، طی ۱۰ هفته متوالی دوره آزمایش (۶۶ تا ۷۵ هفتگی) به جیره غذایی پایه (جدول ۱) خروس‌ها اضافه شد (Khalil-Khalili *et al*., 2021). تغذیه پرندگان بر اساس استاندارد غذایی توصیه‌شده (۱۵۰ گرم در هر پرنده در روز) توسط راهنمای نژاد سویه راس ۳۰۸ (Aviagen, USA) انجام شد. برای القای تنش، تزریق زیر پوستی ۲ میلی‌گرم Dexa به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (با نیمه عمر ۱۱۰ تا ۲۰۰ دقیقه و مدت اثر حدود ۳ روز) طی هفته‌های ۴ تا ۶ آزمایش به‌صورت یک روز در میان انجام شد (Khalil-Khalili *et al*., 2021). شکل ۱-الف طرح کلی آزمایش، شامل مدت‌زمان تغذیه با مکمل oSe، زمان القای تنش و نمونه‌برداری از خون را نشان می‌دهد.

جدول ۱. مواد تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره غذایی پایه خروس گله مادر گوشتی

Table 1. Ingredients and chemical composition of the diets fed to broiler breeder roosters (As fed basis)

Ingredient	Amount (%)
Corn	70.64
Soybean meal, 44% CP	6.50
Wheat bran	19.275
Dicalcium phosphate	0.78
Mineral oyster shall	1.45
Common salt	0.33
NaHCO3	0.10
Mineral premixes[a]	0.25
Vitamin premix[b]	0.25
DL-Met, 99%	0.10
L-Lysin	0.02
Phyzyme TPT	0.005
K2CO3, 56.5%	0.3
Total	100
Calculated nutrient content	
AME (kcal/kg)	2800
CP (%)	11.5
Calcium (%)	0.9
Available phosphorus (%)	0.35
Sodium (%)	0.18
Digestible Lysine (%)	0.24
Digestible Methionine (%)	0.28
Digestible Met + cys (%)	0.47
Digestible Threonine (%)	0.36

a: هر کیلوگرم از مکمل معدنی حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم کولین، ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۱۲۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۱۰ میلی‌گرم روی، ۱۰ میلی‌گرم مس، ۲ میلی‌گرم ید و فاقد سلنیوم بود.

b: هر کیلوگرم مکمل ویتامینه حاوی ۱۱۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۳۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3، ۱۵۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۵ میلی‌گرم ویتامین K3، ۳ میلی‌گرم ویتامین B1، ۱۲ میلی‌گرم ویتامین B2، ۵۵ میلی‌گرم ویتامین B3، ۱۵ میلی‌گرم ویتامین B5، ۴ میلی‌گرم ویتامین B6، ۲ میلی‌گرم ویتامین B9، ۰،۲۵ میلی‌گرم ویتامین H2 و ۰،۰۳ میلی‌گرم ویتامین B12 بود.

a: Provides (per kg of diet): Choline (C5 H14 N O), 300 mg; iron (FeSO4·7H2O), 50 mg; manganese (MnSO4·H2O), 120 mg; Zn (ZnO), 110 mg; copper (CuSO4·5H2O), 10 mg; iodine (KI), 2 mg; selenium (Na2SeO3), 0 mg.

b: Provides (per kg of diet): vitamin A (retinyl acetate), 11,000 IU; vitamin D3 (cholecalciferol), 3,500 IU; vitamin E (DL-α-tocopheryl acetate), 150 IU; vitamin K3 (menadione), 5.0 mg; vitamin B1 (thiamin), 3.0 mg; vitamin B2 (riboflavin), 12 mg; vitamin B3 (niacin), 55 mg; vitamin B5 (ɒpantothenic acid), 15 mg; vitamin B6 (pyridoxine), 4 mg; vitamin B9 (folic acid), 2 mg; vitamin H2 (biotin), 0.25 mg; vitamin B12 (cobalamin), 0.03 mg.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی

طی دوره آزمایش، نمونه‌گیری خون از سیاهرگ براکیال زیر بال به‌صورت یک هفته در میان انجام شد. در کل پنج نوبت خون‌گیری طبق شکل ۱-الف انجام شد. نمونه‌های خون در لوله‌های ونوجکت دارای ماده ضد انعقاد EDTA ریخته و پس از سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها (به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد و با دور ۱۵۰۰×g)، پلاسما جداسازی و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. متابولیت‌های خونی شامل کلسترول تام، تری‌گلیسیرید، اوریک‌اسید، گلوکز، پروتئین تام، آلبومین، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و HDL با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون (Intra-assay CV <10%)، MDA بر پایه روش واکنش با تیوباربیتوریک اسید (Intra-assay CV 2.64%) و TAC و GPX با کیت شرکت رندوکس (Intra-assay CV <3.2%; Randox, United Kingdom) و دستگاه اتوآنالایزر (Alcyon 300i Biochemistry Analyzer, USA) مورد سنجش قرار گرفتند. همچنین، هورمون تستوسترون با کیت شرکت مونوبایند (Assay sensitivity of 0.0576 ng/ml; Intra-assay CV 9.1%; Monobind Inc, USA) و هورمون کورتیکوسترون با کیت شرکت بی‌تی (Assay sensitivity of 0.016 ng/ml; Intra-assay CV 6.43%; Bioassay Technology Laboratory Co, China) طبق دستورالعمل شرکت‌های سازنده اندازه‌گیری شدند. لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار پایین (VLDL) و LDL با فرمول Friedewald-Fredrickson به‌صورت زیر محاسبه گردیدند:

VLDL = TG/5

LDL = کلسترول تام - (HDL + VLDL)

واکاوی آماری

برای واکاوی آماری داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه 9.4) استفاده شد. پیش از آنالیز آماری، نرمال بودن توزیع داده‌ها مورد سنجش قرار گرفت. داده‌ها با رویه MIXED و به‌صورت داده‌های تکرار شده در زمان واکاوی آماری شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای توکی صورت پذیرفت و سطح P<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. نتایج به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین گزارش شده‌اند. مدل آماری مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌صورت زیر بود:

$Y_{ijk}=\mu+T_i+P_j+\delta(i)_k+(T\times P)_{ij}+ e_{ijK}$

که در آن، Y_{ijk}= مقدار هر مشاهده؛ μ = میانگین؛ T_i= اثرتیمار آزمایشی؛ P_j= اثر j امین زمان اندازه‌گیری؛ δ (i)= اثر تصادفی پرنده؛ $(T\times P)_{ij}$= برهمکنش i امین تیمار در jامین زمان اندازه‌گیری؛ e_{ijk}= آثار باقی‌مانده، می‌باشند.

نتایج و بحث

غلظت هورمون‌های تستوسترون و کورتیکوسترون

اثر oSe بر غلظت هورمون‌های تستوسترون و کورتیکوسترون پلاسمای خون خروس‌های تحت تنش ناشی از Dexa در جدول ۲ نشان داده شده است. اگرچه اثر متقابل تیمار و زمان تأثیر معنی‌داری بر غلظت هورمون تستوسترون نداشت، اما غلظت این هورمون تحت تأثیر اثر زمان (P<۰/۰۱) و تیمار (P <۰/۰۵) قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش سطح سلنیوم مصرفی در جیره غذایی، غلظت هورمون تستوسترون افزایش می‌یابد به‌طوری‌که غلظت آن در گروه Se45+Dexa نسبت به گروه‌های شاهد (NC و PC) افزایش معنی‌داری داشت. عمده تستوسترون موجود در بدن از سلول‌های لایدیگ بیضه ترشح می‌شود. نشان داده شده است که سلنیوم از طریق جلوگیری از تخریب بافت بیضه و کاهش آپوپتوزیس سلول‌های لایدیگ می‌تواند باعث افزایش سطح تستوسترون خون گردد (Sarabia Fragoso *et al*., 2013).

تیمار، زمان و برهمکنش تیمار و زمان بر غلظت کورتیکوسترون تأثیر معنی‌دار داشت (جدول ۲ و شکل ۱-ب). غلظت کورتیکوسترون گروه Se45+Dexa نسبت به گروه‌های شاهد (NC و PC) در هفته دوم پس از القای تنش (هفته ۸ آزمایش) کاهش یافت (P<۰/۰۱). این هورمون نقش بسیار مهمی در تنظیم انرژی، پاسخ سیستم ایمنی و پاسخ به تنش دارد. تنش سبب آزادشدن کورتیکوسترون و کاته‌کولامین‌ها و شروع پراکسیداسیون لیپیدها در غشای سلولی

می‌شود و سلنیوم سبب کاهش آثار منفی ناشی از آزاد شدن کورتیکوسترون‌ها و نیز مراقبت از سلول‌های درگیر در پاسخ ایمنی می‌شود. همچنین، سلنیوم با تنظیم ترشح کورتیکوسترون از اتلاف ذخایر بدن در هنگام تنش جلوگیری می‌نماید (Alhenaky *et al.*, 2017). از این رو، احتمالاً تغذیه سلنیوم موجب کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از دگزامتازون و در نتیجه کاهش سطح هورمون کورتیکوسترون شده است.

غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) پلاسمای خون

اثر تغذیه oSe بر MDA و TAC خون خروس‌های تحت تنش در جدول ۲ نشان داده شده است. اثر تیمار، زمان و برهمکنش تیمار و زمان بر غلظت MDA خون معنی‌دار بود. سطح MDA خون در گروه‌های Se30+Dexa و Se45+Dexa در مقایسه با سایر گروه‌ها به طور معنی‌داری کمتر بود (جدول ۲). پس از دو هفته از آغاز تغذیه سلنیوم، غلظت MDA در گروه‌های Se30+Dexa و Se45+Dexa نسبت به گروه کنترل (PC) کاهش معنی‌داری داشتند و این اختلاف، با وجود القای تنش، تا پایان دوره آزمایش نیز نسبت به سایر گروه‌ها (NC، PC) حفظ شد (شکل ۱- ج). القای تنش با افزایش پراکسیداسیون اسیدهای چرب بلند زنجیر اشباع‌نشده (PUFAs) در غشای پلاسمایی سلول‌ها می‌تواند منجر به آسیب غشای سلولی، کاهش یکپارچگی و عملکرد غشای پلاسمایی سلول‌ها و افزایش غلظت MDA در پلاسمای خون شود (Sanocka & Kurpisz, 2004). تغذیه مکمل oSe در این مطالعه احتمالاً با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و محافظت از غشا پلاسمایی سلول‌های بدن در برابر ROSها، پراکسیداسیون لیپیدی و به تبع آن غلظت MDA را در پلاسمای خون کاهش می‌دهد.

اگرچه تیمار تأثیر معنی‌داری بر TAC نداشت، اما تحت تأثیر اثر زمان و برهمکنش تیمار و زمان قرار گرفت (P<۰/۰۱). غلظت TAC موجود در پلاسمای خون در گروه‌های Se30+Dexa و Se45+Dexa در انتهای دوره در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت (شکل ۱- د).

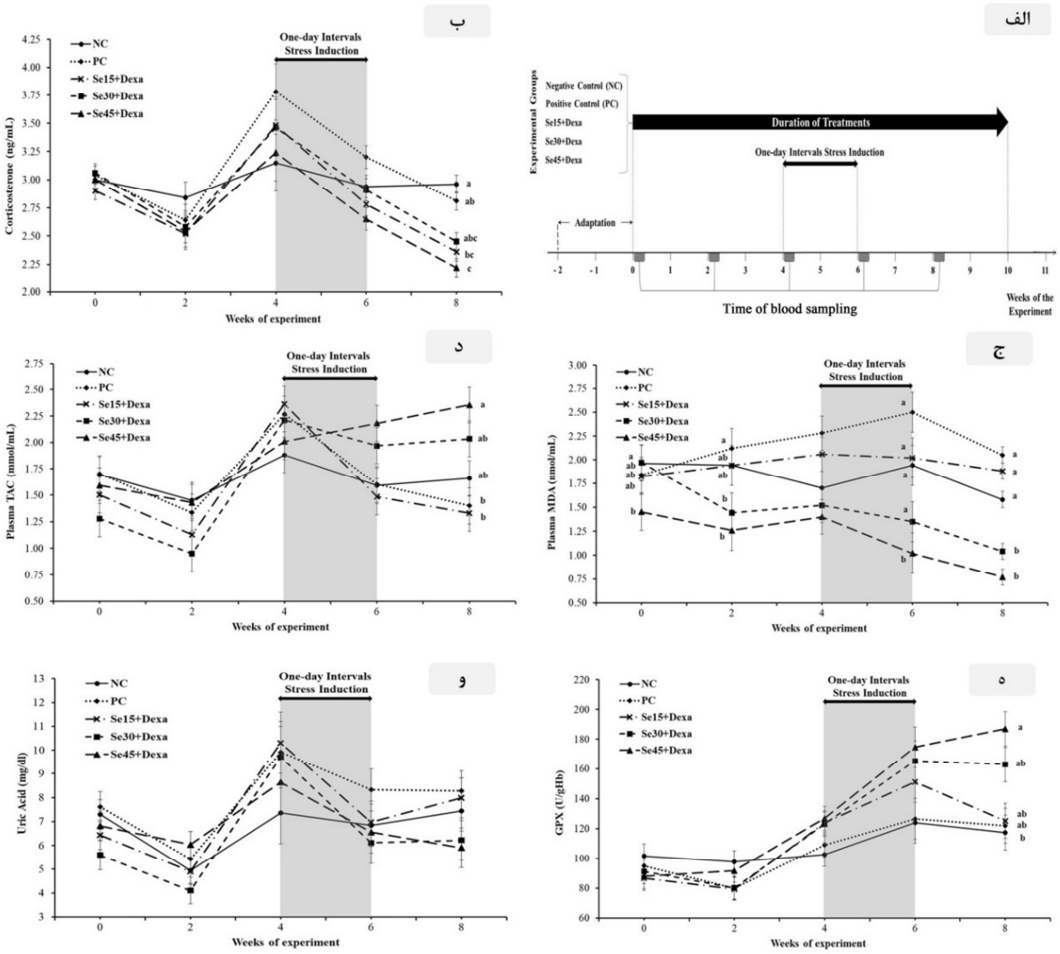
جدول ۲. تأثیر مصرف مکمل خوراکی سلنیوم آلی در سطوح مختلف و تزریق دگزامتازون (Dexa) در مقایسه با گروه‌های شاهد مثبت (PC) و منفی (NC) بر فراسنجه‌های خونی خروس گله مادر گوشتی

Table 2. Effect of dietary supplementation of different organic Se levels and dexamethasone (Dexa) injection compared with positive (PC) and negative (NC) control groups on blood parameters of broiler breeder roosters

Parameter	Experimental groups					SEM	*P* value		
	NC	PC	Se15+Dexa	Se30+Dexa	Se45+Dexa		Treatment	Week	Treatment× Week
Testosterone (ng/mL)	0.96^{b}	0.83^{b}	1.18^{b}	1.63^{ab}	1.93^{a}	0.07	<0.05	<0.01	0.70
Corticosterone (ng/mL)	2.98^{a}	3.09^{a}	2.81^{b}	2.90^{ab}	2.73^{b}	0.07	<0.01	<0.01	<0.01
Plasma MDA (mM/mL)	1.82^{b}	2.16^{a}	1.94^{ab}	1.46^{c}	1.18^{d}	0.07	<0.01	<0.01	<0.01
Plasma TAC (mM/mL)	1.65	1.66	1.56	1.69	1.91	0.14	0.39	<0.01	<0.01
GPX (U/gHb)	108.64	106.44	113.24	124.52	133.60	8.34	0.15	<0.01	<0.01
Uric Acid (mg/dl)	6.78	7.91	7.32	6.25	6.70	0.71	0.47	<0.01	<0.01
Total Protein (g/dl)	4.32	4.70	5.51	4.25	4.40	0.13	0.15	<0.01	<0.01
Albumin (g/dl)	2.46	2.73	2.66	2.55	2.75	0.11	0.32	<0.01	<0.05
ALT (U/L)	4.77	4.75	5.36	4.97	4.96	0.68	0.96	<0.01	0.88
AST (U/L)	258.68	308.08	275.40	267.85	255.52	23.65	0.52	<0.01	0.08
Total Cholesterol (mg/dl)	132.56^{c}	166.64^{a}	155.44^{b}	142.63^{c}	134.12^{c}	1.92	<0.01	<0.01	<0.01
LDL-c (mg/dl)	56.83^{c}	79.24^{a}	69.92^{b}	65.01^{bc}	57.74^{c}	2.04	<0.01	<0.01	<0.01
HDL-c (mg/dl)	56.14^{c}	69.58^{a}	67.77^{ab}	59.03^{abc}	57.66^{bc}	2.77	<0.01	<0.01	0.056
VLDL-c (mg/dl)	19.58^{b}	18.57^{b}	19.32^{b}	20.95^{a}	21.98^{a}	0.52	<0.01	<0.01	<0.05
Triglyceride (mg/dl)	97.92^{b}	92.84^{b}	96.60^{b}	104.73^{a}	109.88^{a}	2.58	<0.01	<0.01	<0.05
Glucose (mg/dl)	231.28	251.84	233.00	243.71	237.80	5.22	0.11	<0.01	0.55

حروف نامشابه بین تیمارها در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار می‌باشد (P <۰/۰۵). پیش از آغاز آزمایش، خروس‌ها به مدت دو هفته (در سن ۶۴ و ۶۵ هفتگی) با شرایط آزمایشگاهی عادت‌دهی شدند. خروس‌ها به‌طور تصادفی به پنج گروه آزمایشی (۱۰ خروس در هر گروه) تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل گروه فاقد تزریق دگزامتازون و مکمل غذایی سلنیوم (شاهد منفی: NC) یا با تزریق دگزامتازون و سطوح ۰ (شاهد مثبت: PC)، ۰/۱۵ (Se15+Dexa)، ۰/۳۰ (Se30+Dexa) و ۰/۴۵ (Se45+Dexa) میلی‌گرم سلنیوم آلی (oSe) در هر کیلوگرم خوراک طی ۱۰ هفته متوالی (۶۶ تا ۷۵ هفتگی) اعمال شد.

a-d: values within a raw with different superscripts differ at P<0.05. Before starting the experiment, the roosters were habituated with the experimental condition for two weeks (64 and 65 weeks of age). The roosters were then divided randomly into five experimental groups (n=10 rooster per group). Experimental treatments either not treated with Dexa and Se (negative control; NC), or treated with Dexa and different levels of oSe including 0 (positive control; PC), 0.15 (Se15+Dexa), 0.30 (Se30+Dexa) or 0.45 (Se45+Dexa) mg/kg of diet for 10 successive weeks (66-75 weeks of age).



شکل ۱. نمودار اجرای آزمایش شامل زمان تغذیه تیمارها با سلنیوم (۰، ۰/۱۵، ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی‌گرم سلنیوم آلی در هر کیلوگرم خوراک)، زمان القای تنش (با تزریق ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن Dexa) و نمونه‌گیری‌ها (الف) و برهمکنش تیمار در زمان بر غلظت پلاسمایی کورتیکوسترون (ب)، مالون‌دی‌آلدهید (ج)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (د)، فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (ه) و اسید اوریک (و).

(توجه: پیش از آغاز آزمایش، خروس‌ها به مدت دو هفته (در سن ۶۴ و ۶۵ هفتگی) با شرایط آزمایشگاهی عادت‌دهی شدند. خروس‌ها به‌طور تصادفی به پنج گروه آزمایشی (۱۰ خروس در هر گروه) تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل گروه فاقد تزریق دگزامتازون و مکمل غذایی سلنیوم (شاهد منفی: NC) یا با تزریق دگزامتازون و سطوح ۰ (شاهد مثبت: PC)، ۰/۱۵ (Se15+Dexa)، ۰/۳۰ (Se30+Dexa) و ۰/۴۵ (Se45+Dexa) میلی‌گرم سلنیوم آلی (oSe) در هر کیلوگرم خوراک طی ۱۰ هفته متوالی (۶۶ تا ۷۵ هفتگی) اعمال شد.)

Figure 1. An outline of the experimental design indicating initiation of dietary selenium (Se) supplementation (0, 0.15, 0.30 and 0.45 mg/kg of diet), times of acute stress induction (subcutaneous injection of 2 mg dexamethasone (Dexa)/Kg BW) and sampling (a) is drawn. Also, the interaction of the treatment in time on the plasma concentrations of corticosterone (b), malondialdehyde (c), total antioxidant capacity (d), glutathione peroxidase activity (e) and uric acid (f) has been shown. (Note: Before starting the experiment, the roosters were habituated with the experimental condition for two weeks (64 and 65 weeks of age). The roosters were then divided randomly into five experimental groups (n=10 rooster per group). Experimental treatments either not treated with Dexa and Se (negative control; NC), or treated with Dexa and different levels of oSe including 0 (positive control; PC), 0.15 (Se15+Dexa), 0.30 (Se30+Dexa) or 0.45 (Se45+Dexa) mg/kg of diet for 10 successive weeks (66-75 weeks of age).)

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، اثر تجمعی همه آنتی‌اکسیدان‌های موجود در بدن را بر اساس توانایی آن‌ها در از بین بردن رادیکال‌های آزاد با سازوکار اختصاصی و یا غیراختصاصی را ارزیابی می‌کند. سلنیوم بخشی از سلنوآنزیم‌ها یا سلنوپروتئین‌ها است که طی فرآیند اکسیداسیون در سلول‌ها تولید می‌شوند و در حذف پراکسید هیدروژن و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی نقش دارند (Behne & Kyriakopoulos, 2001). گزارش شده است که کمبود Se فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مقدار

TAC را در دیواره رگ‌ها کاهش می‌دهد، درحالی‌که افزودن مکمل Se در جیره غذایی باعث افزایش TAC می‌شود و احتمالاً از این راه، oSe از آثار مخرب القای تنش جلوگیری می‌کند (Wu *et al*., 2003).

فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و غلظت اسید اوریک در خون

اثر تغذیه oSe بر فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی GPX و غلظت اسید اوریک در خون خروس‌های تحت تنش ناشی از Dexa در جدول ۲ نشان داده شده است. برهمکنش تیمار و زمان بر فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی GPX ($P<0/01$) نشان داد که با تزریق Dexa، فعالیت GPX افزایش یافت و دو هفته پس از القای تنش، سطح آن در گروه Se45+Dexa، به طور معنی‌داری نسبت به گروه NC بیشتر بود (شکل ۱- هـ). گفته می‌شود که GPX یک سلنوآنزیم مهم در سطح اول دفاع آنتی‌اکسیدانی است و در پاک‌سازی سوپراکسیدها و H_2O_2 نقش دارد؛ به‌طوری که ساختار و عملکرد غشای سلولی در اندام‌ها و بافت‌های بدن را حفظ کند (Kaya *et al*., 2004). شایان ذکر است که احتمالاً یکی از دلایل افزایش TAC در گروه‌های تغذیه شده با سلنیوم، افزایش فعالیت GPX باشد.

در هفته چهارم آزمایش با شروع القای تنش، غلظت اسید اوریک در پلاسمای خون افزایش یافت، اما پس از القای تنش غلظت آن در گروه‌های Se30+Dexa و Se45+Dexa نسبت به گروه PC کاهش یافت. با این وجود، اختلاف بین گروه‌های آزمایشی طی هفته‌های مختلف آزمایش معنی‌دار نبود (جدول ۲ و شکل ۱- و). در پی بروز تنش و التهاب در بدن، پراکسیداسیون لیپیدی، تخریب سلولی و آپوپتوزیس افزایش می‌یابد و در نتیجه آن، اسید اوریک که یک فرآورده حاصل از سوخت‌وساز، متابولیسم پروتئین‌ها و کاتابولیسم بالا افزایش می‌یابد (Khalid *et al*., 2016). کاهش نسبی غلظت اسید اوریک در گروهای تغذیه شده با سلنیوم را می‌توان به کاهش اثر تنش و کاهش هورمون‌های تنش مانند کورتیکوسترون‌ها و در نتیجه به کاهش کاتابولیسم پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه نسبت داد.

غلظت پروتئین تام و آلبومین و فعالیت آنزیم‌های کبدی (ALT و AST) در پلاسمای خون

اثر تغذیه oSe بر غلظت پروتئین تام و آلبومین و فعالیت آنزیم‌های کبدی ALT و AST در پلاسمای خون خروس‌های تحت تنش ناشی از Dexa در جدول ۲ نشان داده شده است. اثر تیمار بر این فراسنجه‌ها معنی‌دار نبود، ولی برهمکنش تیمار و زمان بر فراسنجه‌های پروتئین تام و آلبومین معنی‌دار بود. با اینکه بین تیمارها در طول آزمایش از نظر غلظت پروتئین کل و آلبومین تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما با گذر زمان و القای تنش، سطح این دو فراسنجه افزایش یافت (شکل ۲- الف و شکل ۲- ب)؛ در حالی که در گروه کنترل منفی روند نسبتاً ثابتی در مورد پروتئین کل و آلبومین مشاهده شد. این افزایش در گروه‌های تیماری به ویژه در گروه‌های تغذیه شده با سلنیم آلی می‌تواند به دلیل افزایش ساخت پروتئین‌ها، به ویژه سلنوپروتئین‌ها و آلبومین، در سلول‌های کبدی در شرایط تنش باشد. الگوی نسبتاً مشابه تغییرات غلظت آلبومین و پروتئین خون طی دوره آزمایش نشان می‌دهد که تغییرات پروتئین کل متأثر از آلبومین بوده است. پروتئین‌ها از اجزای مهم خون در بدن بوده که برای تمام بافت‌ها و سلول‌های بدن یک ماده مهم و حیاتی محسوب می‌شوند. گزارش شده است که سلنیوم آلی برای تولید انرژی و ترجمه پروتئین ضروری است و سبب افزایش ساخت پروتئین‌ها و سوخت‌وساز بدن می‌شود (Brennan *et al*., 2012). آلبومین یکی از مهم‌ترین پروتئین‌های درون پلاسما بوده که در کبد ساخته می‌شود و حدود ۶۰ درصد از کل پروتئین موجود در خون را تشکیل می‌دهد (Surai, 2018). آلبومین، سلنیوم را به کبد منتقل می‌کند. سلنیوم در کبد آزاد می‌شود و در ساخت سلنوپروتئین P مورد استفاده قرار می‌گیرد. این سلنوپروتئین درون جریان خون آزاد می‌شود و بدین ترتیب به‌عنوان حامل سلنیوم بین کبد و سایر اندام‌ها و بافت‌ها عمل می‌کند (Bansal & Bilaspuri, 2011). آلبومین سرم به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی، در هنگام مواجهه بدن با تنش از اهمیت بالایی برخوردار است (Alvarez & Storey, 1983).

یکی دیگر از راه‌های تشخیص و بررسی افزایش

فعالیت و یا آسیب‌های کبدی، سنجش برخی از آنزیم‌های واقع در سیتوزول سلول‌های کبدی مانند ALT و AST است. ALT و AST آنزیم‌هایی هستند که بیشتر در کبد یافت می‌شوند. به‌طور معمول غلظت این آنزیم‌ها در خون اندک است. در صورت بروز اختلال در عملکرد کبد مانند تخریب بافت پارانشیم کبدی یا نکروز هپاتیک که سلول‌های کبد آسیب دیده‌اند، پیش از آن که علائم بارزتر آسیب کبدی رخ دهد، ALT و AST داخل جریان خون آزاد می‌شوند (Surai, 2018). در این آزمایش اثر تیمار و اثر متقابل تیمار و زمان بر آنزیم‌های کبدی معنی‌دار نشد که احتمالا نشان می‌دهد تنش القا شده، به بافت کبدی آسیب چندانی نرسانده است.

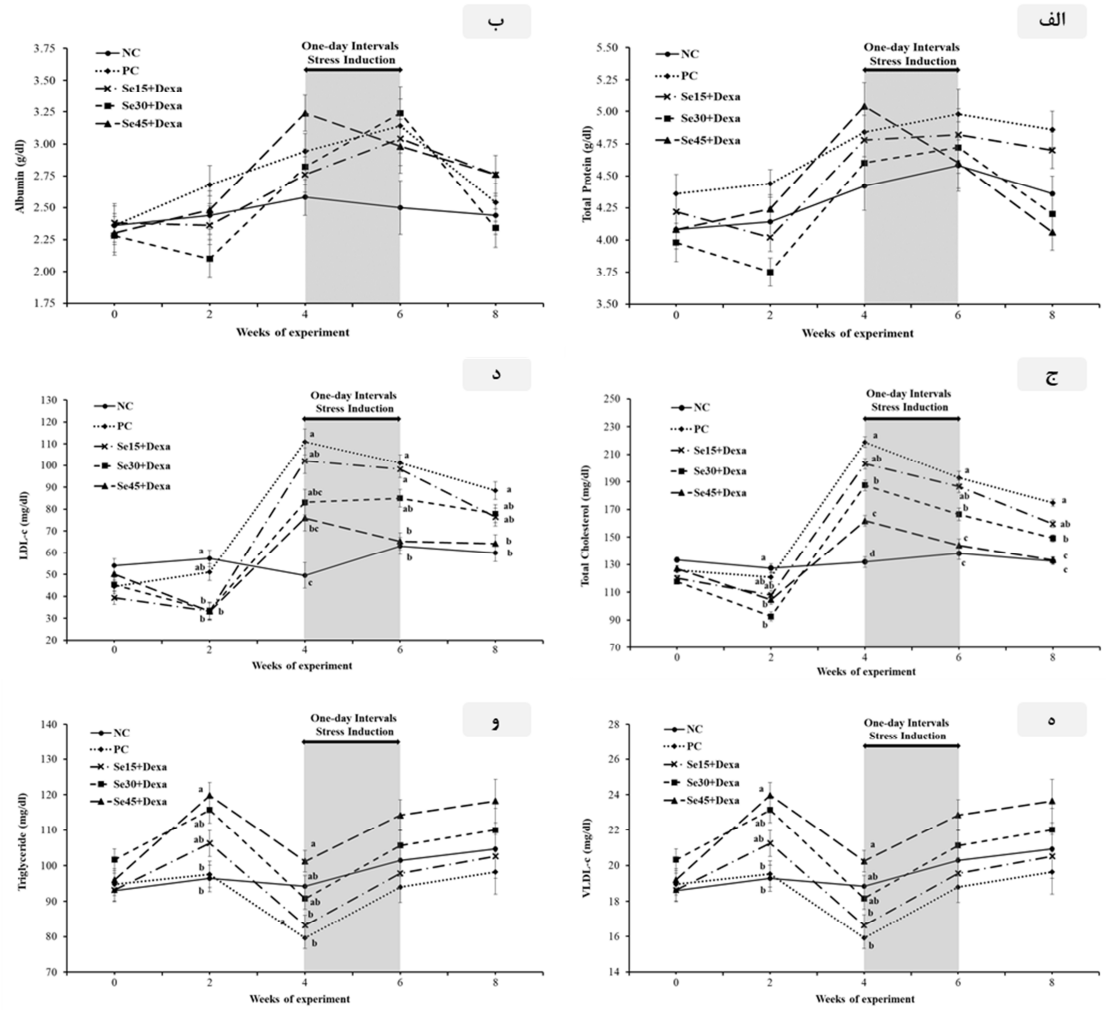
غلظت کلسترول تام، لیپوپروتئین‌ها (LDL، HDL، VLDL) و تری‌گلیسرید در خون

اثر تغذیه oSe بر غلظت کلسترول تام، لیپوپروتئین‌ها (LDL، HDL، VLDL) و تری‌گلیسرید پلاسمای خون خروس‌های تحت تنش ناشی از Dexa در جدول ۲ گزارش شده است. اثر تیمار و اثر زمان بر هر پنج فراسنجه معنی‌دار بود. همچنین، برهمکنش تیمار و زمان بر فراسنجه‌های کلسترول تام، LDL، VLDL و تری‌گلیسرید معنی‌دار بود. تغذیه oSe پس از دو هفته از آغاز آزمایش باعث کاهش معنی‌دار مقدار کلسترول (شکل ۲- ج) و LDL (شکل ۲- د) شد. اگرچه تزریق Dexa باعث افزایش سطح این دو فراسنجه کبدی شد، ولی مشاهدات نشان داد که با افزایش سطح سلنیوم در جیره غذایی، غلظت کلسترول و LDL نسبت به گروه PC پایین‌تر بود و این اختلاف معنی‌دار تا پایان آزمایش حفظ شد. اثر تیمار بر HDL نشان داد که با افزایش مقدار سلنیوم در جیره غذایی، مقدار این لیپوپروتئین‌ها در خون کمتر تحت تأثیر تنش قرار گرفت (جدول ۲). تغذیه oSe پس از دو هفته باعث افزایش غلظت VLDL و تری‌گلیسرید نسبت به گروه‌های شاهد شد، اما القای تنش باعث کاهش این دو فراسنجه شد (شکل ۲- هـ و ۲- و). همچنین، مشاهده شد که غلظت VLDL و تری‌گلیسرید در گروه‌های Se30+Dexa و Se45+Dexa در طول آزمایش بیشتر از گروه PC بود (جدول ۲).

در این آزمایش مشاهده شد که القای تنش باعث افزایش غلظت کلسترول تام و LDL می‌شود ولی سطح آن‌ها در گروه‌های تغذیه شده با سلنیوم نسبت به گروه PC کمتر بود. گزارش شده است که تنش اکسیداتیو باعث افزایش سطح کلسترول کل پلاسما در توله‌سگ‌ها، مادران آن‌ها و موش‌های صحرایی بالغ شد (Sefi *et al*., 2011). افزایش کلسترول کل پلاسما و LDL را می‌توان به انسداد مجاری صفراوی کبد که باعث کاهش یا توقف ترشح کلسترول در دوازدهه می‌شود، نسبت داد. از این رو، احتمالاً سلنیوم باعث جلوگیری از انسداد مجاری صفراوی کبد می‌شود. همچنین، در این آزمایش مشاهده شد که القای تنش باعث کاهش سطح تری‌گلیسرید و VLDL می‌شود، ولی مقدار آن‌ها در گروه‌های تغذیه شده با سلنیوم نسبت به گروه PC بیشتر بود. آنزیم‌های لیپاز در سطح سوم دفاع آنتی‌اکسیدانی وظیفه ترمیم یا برداشتن مولکول‌های آسیب دیده را برعهده دارند (Surai, 2018). کاهش سطح تری‌گلیسرید پلاسما ممکن است به دلیل افزایش فعالیت آنزیم لیپاز بر تری‌گلیسرید کبدی و لیپوپروتئین‌های پلاسما و هم‌زمان با آن افزایش سوخت‌وساز بدن و مصرف انرژی حاصل از تجزیه تری‌گلیسرید برای مقابله با شرایط تنش باشد؛ زیرا تری گلیسیریدها یکی از منابع اصلی انرژی در بدن هستند.

غلظت گلوکز خون

اثر تغذیه oSe بر غلظت گلوکز در پلاسمای خون خروس‌های تحت تنش ناشی از Dexa در جدول ۲ نشان داده شده است. اگرچه با گذر زمان آزمایش، تغییرات غلظت گلوکز تحت تأثیر قرار گرفت، اما اثر تیمار و برهمکنش تیمار و زمان بر این فراسنجه معنی‌دار نبود. گلوکز از منابع مهم انرژی بدن است که تغذیه سلنیوم باعث افزایش غلظت آن در خون می‌شود و طی دوره تنش، با تأثیر هورمون گلوکاگون بر کبد و گلیکوژنولیز تامین آن تسهیل می‌گردد (Huang *et al*., 2016). همچنین، گزارش شده است که تنش می‌تواند باعث افزایش غلظت گلوکوکورتیکوئیدها و افزایش تولید گلوکز از ترکیبات غیرقندی (گلوکونئوژنز) شود (Luseba, 2013). با این حال، علت عدم تفاوت معنی‌دار در سطح گلوکز در بین تیمارهای مختلف پژوهش حاضر به روشنی مشخص نیست.



شکل ۲. برهمکنش تیمار در زمان بر غلظت پروتئین تام (الف)، آلبومین (ب)، کلسترول تام (ج)، لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین (د)، لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی پایین (ه) و تری‌گلیسرید (و) نشان داده شده است.

(توجه: پیش از آغاز آزمایش، خروس‌ها به مدت دو هفته (در سن ۶۴ و ۶۵ هفتگی) با شرایط آزمایشگاهی عادت‌دهی شدند. خروس‌ها به‌طور تصادفی به پنج گروه آزمایشی (۱۰ خروس در هر گروه) تقسیم شدند. تیمارهای آزمایشی شامل گروه فاقد تزریق دگزامتازون و مکمل غذایی سلنیوم (شاهد منفی: NC) یا با تزریق دگزامتازون و سطوح ۰ (شاهد مثبت: PC)، ۰/۱۵ (Se15+Dexa)، ۰/۳۰ (Se30+Dexa) و ۰/۴۵ (Se45+Dexa) میلی‌گرم سلنیوم آلی (oSe) در هر کیلوگرم خوراک طی ۱۰ هفته متوالی (۶۶ تا ۷۵ هفتگی) اعمال شد.)

Figure 2. The interaction of the treatment in time on the plasma concentrations of total protein (a), Albumin (b), total cholesterol (c), LDL (d), VLDL (e) and Triglyceride (f) has been shown.

(Note: Before starting the experiment, the roosters were habituated with the experimental condition for two weeks (64 and 65 weeks of age). The roosters were then divided randomly into five experimental groups (n=10 rooster per group). Experimental treatments either not treated with Dexa and Se (negative control; NC), or treated with Dexa and different levels of oSe including 0 (positive control; PC), 0.15 (Se15+Dexa), 0.30 (Se30+Dexa) or 0.45 (Se45+Dexa) mg/kg of diet for 10 successive weeks (66-75 weeks of age).)

نتیجه‌گیری

در این مطالعه سطوح مختلف سلنیوم آلی و آثار آن در شرایط تنش از طریق فراسنجه‌های خونی مورد بررسی قرار گرفت و به‌طورکلی می‌توان استنباط کرد که مکمل خوراکی سلنیوم آلی آثار منفی ناشی از تنش اکسیداتیو بر فراسنجه‌های خونی کلسترول تام، HDL، LDL و MDA در خروس‌های مرغ مادر تحت تنش القا شده با دگزامتازون را بهبود می‌بخشد و بنابراین سلنیوم احتمالاً می‌تواند با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بدن، باعث کاهش آسیب وارده بر غشاهای سلولی ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی و حفظ شرایط پایدار بدن (هومئوستازی) در خروس‌های سنین بالا، که تحت تنش ناشی از افزایش سن قرار دارند، شود.

سپاسگزاری

از گروه تولیدی رامسر طیور که پرندگان مورد نیاز این پژوهش را فراهم کردند و آقایان دکتر میثم توکلی الموتی (مدیر تولید گروه تولیدی رامسر طیور، تنکابن، ایران)، دکتر حسین شریده، مهندس جلیل درستی، امین کاظمی و اشکان غلامی (دانش‌آموختگان و دانشجویان گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران) برای همراهی و کمک در انجام این پژوهش، تقدیر و تشکر می‌گردد.

REFERENCES

1. Alhenaky, A., Abdelqader, A., Abuajamieh, M., & Al-Fataftah, A. R. (2017). The effect of heat stress on intestinal integrity and Salmonella invasion in broiler birds. *Journal of Thermal Biology*, 70, 9-14.
2. Alvarez, J. G., & Storey, B. T. (1983). Taurine, hypotaurine, epinephrine and albumin inhibit lipid peroxidation in rabbit spermatozoa and protect against loss of motility. *Biology of Reproduction*, 29, 548-555.
3. Baiomy, A., Mohamed, A., & Mottelib, A. (2009). Effect of dietary selenium and vitamin E supplementation on productive and reproductive performance in rams. *Journal of Veterinary Medical Research*, 19, 39-43.
4. Bansal, A. K., & Bilaspuri, G. S. (2011). Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Veterinary Medicine International,* 2011, 1-7.
5. Behne, D., & Kyriakopoulos, A. (2001). Mammalian selenium-containing proteins. *Annual Review of Nutrition*, 21, 453-473.
6. Brennan, K.M., Pierce, J. L., Cantor, A. H., Pescatore, A. J., Xiao, R., & Power, R. F. (2012). Source of selenium supplementation influences testis selenium content and gene expression profiles in Single Comb White Leghorn roosters. *Biological Trace Element Research*, 145, 330-337.
7. Brigelius-Flohé, R. (2006). Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors. *Biological Chemistry*, 387, 1329-1335.
8. Couloigner, F., Jlali, M., Briens, M., Rouffineau, F., Geraert, P. A., & Mercier, Y. (2015). Selenium deposition kinetics of different selenium sources in muscle and feathers of broilers. *Poultry Science*, 94, 2708-2714.
9. Eid, Y., Ebeid, T., & Younis, H. (2006). Vitamin E supplementation reduces dexamethasone-induced oxidative stress in chicken semen. *British Poultry Science*, 47, 350-356.
10. Han, F., Chen, D., Yu, B., & Luo, W. (2009). Effects of different selenium sources and levels on serum biochemical parameters and tissue selenium retention in rats. *Frontiers of Agriculture in China*, 3, 221-225.
11. 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.
12. Jlali, M., Briens, M., Rouffineau, F., Mercerand, F., Geraert, P.A., & Mercier, Y. (2013). Effect of 2-hydroxy-4-methylselenobutanoic acid as a dietary selenium supplement to improve the selenium concentration of table eggs. *Journal of Animal Science*, 91, 1745-1752.
13. Kaya, H., Sezik, M., Ozkaya, O., Dittrich, R., Siebzehnrubl, E., & Wildt, L. (2004). Lipid peroxidation at various estradiol concentrations in human circulation during ovarian stimulation with exogenous gonadotropins. *Hormone and Metabolic Research*, 36, 693-695.
14. 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, 202-209.
15. Khalil-Khalili, A. A., Zhandi, M., Zaghari, M., Mehrabani-Yeganeh, H., Yousefi, A.R., & Tavakoli-Alamooti, M. (2021). The effect of dietary organic selenium on reproductive performance of broiler breeder roosters under dexamethasone induced stress. *Theriogenology*, 161, 16-25.
16. Leeson, S., & Summers, J. D. (2010) *Broiler Breeder Production*. Nottingham University Press.
17. Luseba, D. (2013). Effects of sodium selenite and chromium sulphate as metabolic modifiers on stress alleviation, performance and liver mineral contents of feedlot Bonsmara cross steers. *African Journal of Agricultural Research*, 8, 6012-6020.
18. Miazi, O. F., Miah, G., Miazi, M. M., Uddin, M. M., Hassan, M. M., & Faridahsan, M. (2012). Fertility and hatchability of Fayoumi and Sonali chicks. *Scholarly Journal of Agricultural Science*, 2, 83-86.
19. Sanocka, D., & Kurpisz, M. (2004). Reactive oxygen species and sperm cells. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2, 12-21.

20. Sarabia Fragoso, J., Pizarro Díaz, M., Abad Moreno, J. C., Casanovas Infesta, P., Rodriguez-Bertos, A., & Barger, K. (2013). Relationships between fertility and some parameters in male broiler breeders (body and testicular weight, histology and immunohistochemistry of testes, spermatogenesis and hormonal levels). *Reproduction in Domestic Animals*, 48, 345-352.
21. Sefi, M., Bouaziz, H., Soudani, N., Boudawara, T., & Zeghal, N. (2011). Fenthion induced-oxidative stress in the liver of adult rats and their progeny: Alleviation by Artemisia campestris. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 101, 71-79.
22. Surai, P. F. (2006). *Selenium in Nutrition and Health*. Nottingham University Press Nottingham.
23. Surai, P. F., & Fisinin, V. I. (2014). Selenium in poultry breeder nutrition: An update. *Animal Feed Science and Technology*, 191, 1-15.
24. Surai, P. F. (2016). Antioxidant systems in poultry biology: Superoxide dismutase. *Journal of Animal Research and Nutrition*, 1, 8-16.
25. Surai, P. F. (2018). *Selenium in Poultry Nutrition and Health*. Wageningen Academic Publishers.
26. Wu, Q., Huang, K., & Xu, H. (2003). Effects of long-term selenium deficiency on glutathione peroxidase and thioredoxin reductase activities and expressions in rat aorta. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 94, 301-306.