



Original Research Paper

Effect of different levels of selenium nanoparticles on some sperm quality indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Javad Mahdavi Jehanabad *, Abolhasan Rastien Nasab, Roghaye Mahmodi, Seyed Hossein Moradiyan

Shahid Motahari Coldwater Fishes Genetic and Breeding Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Yasouj, Iran

Key Words

Selenium nanoparticles
Sperm quality
Spermatocrit
Rainbow trout

Abstract

Introduction: In this study, the effects of dietary selenium nanoparticles on sperm quality and reproductive performance of male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) breeders were investigated.

Materials & Methods: A total of 120 male breeding fish were selected from the breeding herd of Shahid Motahari Genetic Research and Breeding Fish Center of Shahid Motahari in Yasouj. After adaptation, fish were divided into 4 experimental groups with 3 replications. Male breeders fed commercial feed (no selenium nanoparticles) (control group) and male breeders fed a diet containing 0.5, 1 and 2 mg selenium nanoparticles per kg diet. After qualitative evaluation of sperm, proliferation and fertilization operations were performed for different groups using control ova.

Results: The results showed that the highest sperm volume and the highest sperm density were observed in rainbow trout breeders fed with 2 mg selenium nanoparticles per kg diet. The lowest sperm volume was observed in the control groups and 0.5 mg selenium nanoparticles and the lowest sperm density was observed in the control group. Sperm motility time in fish fed diets containing selenium nanoparticles (0.5, 1 and 2 mg) was significantly longer than the control group fed diets containing selenium nanoparticles. There was no significant difference between the percentage of motile spermatozoa and spermatocytes between the experimental groups.

Conclusion: In general, dietary selenium nanoparticles improve sperm quality in male rainbow trout breeders.

* Corresponding Author's email: mahdavejavad60@yahoo.com

Received: 7 May 2021; Reviewed: 14 June 2021; Revised: 5 August 2021; Accepted: 15 September 2021

(DOI): 10.22034/AEJ.2021.298249.2606

مقاله پژوهشی

تأثیر سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم بر برخی شاخص‌های کیفی اسپرم ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

جواد مهدوی جهان‌آباد*، ابوالحسن راستیان‌نسب، رقیه محمودی، سیدحسین مرادیان

مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران

چکیده	کلمات کلیدی
<p>مقدمه: در این مطالعه اثرات نانوذرات سلنیوم جیره بر کیفیت اسپرم و عملکرد تولیدمثلی مولدین نر قزل‌آلای رنگین‌کمان (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) بررسی شد.</p> <p>مواد و روش‌ها: تعداد ۱۰۰ قطعه ماهی مولد نر از بین گله مولدین مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج انتخاب شد. پس از سازگاری، ماهیان به ۴ گروه آزمایشی با ۳ تکرار تقسیم شدند. مولدین نر که با غذای تجاری (فاقد نانوذرات سلنیوم) تغذیه شدند (گروه شاهد) و مولدین نر که با جیره حاوی ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم در کیلوگرم جیره تغذیه شدند. بعد از ارزیابی کیفی اسپرم، عملیات تکثیر و لقاح برای گروه‌های مختلف با استفاده از تخمک‌های ماده شاهد انجام شد.</p> <p>نتایج: نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان حجم اسپرم و بیش‌ترین تراکم اسپرم در مولدین قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم در کیلوگرم جیره مشاهده شد. کم‌ترین میزان حجم اسپرم در گروه‌های شاهد و ۰/۵ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم و کم‌ترین تراکم اسپرم در مولدین گروه شاهد مشاهده شد. مدت زمان تحرک اسپرم در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی نانوذرات سلنیوم (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود که با جیره فاقد نانوذرات سلنیوم تغذیه شده بودند. تفاوت معنی‌داری میان درصد اسپرم‌های متحرک و اسپرماتوکریت میان گروه‌های آزمایشی مشاهده نگردید.</p> <p>بحث و نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، غذای غنی شده با نانوذرات سلنیوم جیره موجب بهبود کیفی اسپرم در مولدین نر قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود.</p>	<p>نانوذرات سلنیوم کیفیت اسپرم اسپرماتوکریت قزل‌آلای رنگین‌کمان</p>

مقدمه

شوند (۹). علاوه بر این در صورتی که غلظت‌های این ماده از حد آستانه بالا رود، انتقال مادری این ماده به تخم‌ها ممکن است سبب بروز ناهنجاری و یا مرگ جنین شود (۱۰). در میان اندام‌های تولید مثلی، بیضه دارای بالاترین غلظت سلینیوم است که مقدار آن حتی از کبد نیز بیش‌تر است. غلظت سلینیوم نشان‌دهنده نقش محافظتی این عنصر کمیاب و آنزیم‌های مرتبط با آن در طی اسپرماتوژنز است. غلظت سلینیوم در بیضه موش توسط مکانیسم هوموس تاتیک تنظیم می‌شود که مقدم بر ظرفیت سلینیوم در گنادهای نر از سایر بافت‌ها است (۱۱). نیازهای بیضه‌ای به سلینیوم در زمان بلوغ هم‌زمان با اسپرماتوژنز افزایش می‌یابد. کاهش غلظت سلینیوم احتمالاً اسپرماتوزوآ را نسبت به رادیکال‌های آزاد اکسیژن آسیب‌پذیرتر می‌سازد. سرعت میتوز و مراحل مختلف میوز در توبول منی‌ساز، سلول‌های زاینده را در معرض اثر آسیبی موضعی رادیکال‌های آزاد قرار می‌دهد. سلینیوم یک آنتی‌اکسیدان قوی است که جزء ضروری آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز (GSH-Px) می‌باشد (۱۲). این آنزیم تجزیه پراکسیدهای لیپید و هیدروژن پراکسید را کاتالیز می‌کند. عمل بیولوژیکی سلینیوم در پستانداران از طریق ترکیبات فعال زیستی شامل آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز و سایر سلنوپروتئین‌های سرم و بافت بیان می‌شود. (۱۳). کمبود سلینیوم با مشکلات تولیدمثلی در موش صحرایی، موش خانگی، جوجه، خوکچه، گوسفند و گوساله مرتبط است (۱۴). تحقیقات نشان داده‌اند که مکمل سلینیوم موجب بهبود عملکرد تولیدمثلی گوسفند و موش می‌شود (۱۵، ۱۶). سلینیوم برای رشد و نمو طبیعی بیضه و اسپرماتوژنز در موش صحرایی (۱۳)، موش و خوکچه (۱۴) ضروری است. سلنیومیک عنصر ضروری در سنتز زیستی تستسترون و شکل‌گیری و تکامل طبیعی اسپرماتوزوآ است (۱۳، ۱۷). بافت بیضه دارای غلظت‌های بالای سلینیوم به‌ویژه به شکل GPx4 است و از آن‌جاکه GPx4 عامل اساسی تعیین‌کننده ساختار قسمت میانی اسپرماتوزوآ است (۱۸)، در نتیجه این مسئله ارتباطی میان سلینیوم، کیفیت اسپرم و قابلیت بارورسازی ایجاد می‌کند و از اسپرم‌های در حال تکامل در برابر آسیب‌های DNA ناشی از استرس اکسیداتیو حفاظت می‌کند (۱۹)، (۲۰). برخی شواهد حاکی از افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌تی GPx4 و در نتیجه افزایش قدرت باروری جنس نر ناشی از افزایش سلنیوم در جیره غذایی هستند (۲۰). با توجه به نقش کلیدی سلینیوم که به اختصار در پاراگراف‌های پیشین به آن اشاره شد، در پژوهش حاضر سعی شد، با کنترل شرایط محیطی مناسب مانند درجه حرارت، pH، اکسیژن و ...، تأثیرات مصرف سلینیوم به‌همراه جیره غذایی مولدین نر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد پایش و بررسی قرار بگیرد.

عملکرد تولیدمثلی حیوانات به فاکتورهای مختلف از جمله ژنتیک، تغذیه، مدیریت و محیط‌زیست وابسته است (۱). استفاده از مواد معدنی کمیاب در جیره غذایی حیوانات ضروری است چون حتی تغییر جزئی در سطوح این مواد تأثیر چشمگیری بر سلامت و عملکرد تولیدمثلی حیوانات دارد (۲). سلینیوم ماده غذایی کمیاب و ضروری برای انسان و حیوانات است که دارای عملکردهای فیزیولوژیک متعددی می‌باشد. سلینیوم به‌عنوان جزئی از آنزیم‌های گلوکوتاتیون پراکسیداز و سلنو پروتئین‌ها نقش‌های متعددی از جمله دفاع آنتی‌اکسیدانی، باروری در هر دو جنس نر و ماده، متابولیسم تیروئید، سیستم ایمنی، سرطان، عملکرد غدد درون‌ریز بیماری‌های قلبی عروقی و تکامل و عملکرد عضلات ایفا می‌کند (۳). تغییر جزئی در سطوح سلینیوم ممکن است اثرات شدیدی به‌همراه داشته باشد. در مطالعه Kazemi و همکاران، تأثیر تغذیه با منابع مختلف مکمل روی بر تغییرات بیوشیمیایی و آنزیمی اولیه و شاخص‌های کمی و کیفی اسپرم در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد بررسی قرار گرفت (۴). سلینیوم مورد نیاز بدن موجودات زنده طریق مواد غذایی تأمین می‌شود. عنصر سلینیوم (Se) در سال ۱۸۱۷ کشف و در ابتدا تصور می‌شد که برای موجودات زنده سمی است تا این‌که Rotruck و همکاران گزارش کردند که سلینیوم موجب ساخت پروتئین به نام سلنوسیستئین می‌شود (SeCys) که برای فرآیندهای طبیعی زندگی، ضروری می‌باشد (۵). سلینیوم یک ریزمغذی شبه فلز در رژیم غذایی مورد نیاز پستانداران است و در محصول‌های گیاهی و حیوانی به‌خصوص غذاهای دریایی، جگر، حبوبات، زرده تخم‌مرغ، شیر، آب و خاک یافت می‌شود (۶). سلینیوم موجود در صخره‌ها و خاک از طریق هوازدگی و فرسایش وارد محیط‌های آبی می‌شوند. فعالیت‌های انسانی از جمله زهکشی آب‌های زیرسطحی، احتراق زغال سنگ و فعالیت‌های معدنی باعث تسریع رهاسازی سلنیوم می‌شوند. (۷). نانو عنصر سلینیوم به دلیل ویژگی نمایشی ذرات نانومتری مانند: سطح فعالیت و بازده بالا، نقش کاتالیزوری، توانایی جذب بالا و از همه مهم‌تر ویژگی سمیت کم سلینیوم، توجه گسترده‌ای را به خود جذب کرده است. دسترسی زیستی سلینیوم با اشکال متفاوت آن مرتبط است. در حال حاضر فرم معمول سلینیوم، سلنیت سدیم به‌عنوان یک مکمل در خوراک حیوانات استفاده می‌شود و فرم‌های آلی آن مانند مخمر سلینیوم غنی شده، منبع سلینیوم تجاری مورد استفاده در خوراک دام در ایالات متحده آمریکا است (۸). از آن‌جاکه مدت زمان تحرک اسپرم در ماهیان بسیار کوتاه است، در نتیجه لقاح باید در کوتاه‌ترین زمان ممکن صورت گیرد و در نتیجه فاکتورهای خارجی ممکن است بر توانایی تولیدمثلی تأثیرگذار

مواد و روش‌ها

تهیه مولدین و شرایط پرورشی: این پژوهش در تابستان ۱۳۹۸ در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج اجرا شده است. تعداد ۱۰۰ عدد مولد نر ۴ ساله با میانگین طول ۵۶/۴۳ سانتی‌متر و میانگین وزن ۲۳۷۶/۲۵ گرم انتخاب شدند. جهت انتخاب مولدین معیارهایی از قبیل سلامت ظاهری ماهی مد نظر قرار گرفت. پس از سازگاری کامل ماهی‌ها، غذادهی به مدت ۲ ماه به‌طور روزانه در دو نوبت طی ساعات‌های ۹ صبح و ۱۸ عصر صورت گرفت. جیره غذایی غنی شده با سلنیوم در چهار تیمار مختلف به‌میزان ۱ درصد وزن بدن صورت گرفت. تیمارهای مختلف شامل تیمار شاهد بدون افزودن نانوذرات سلنیوم، به‌علاوه سه تیمار آزمایش که به‌ترتیب حاوی ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات سلنیوم در کیلوگرم غذا بود. شاخص‌های کیفیت آب طی دوره پرورش ماهیان به‌صورت منظم ثبت گردید. آب چشمه با دمای ۱۱±۰/۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن ۷/۹±۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر و pH، ۷/۶±۰/۳ تأمین شد. مقدار غلظت آمونیاک (به‌میزان آمونیاک کم‌تر از ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر بود) ثبت شد. غلظت آمونیاک با استفاده از (کیت سنجش آمونیاک Insta-Test® ANALYTIC اندازه‌گیری گردید). دوره نوری براساس شرایط طبیعی تأمین شد.

تهیه غذا: در هر تیمار، مقدار محاسبه‌شده سلنیوم برای دست‌یابی به دوزهای مورد نظر، ابتدا با آب مقطر به حجم مورد نظر رسانده شد و سپس به‌صورت جداگانه بر روی غذاها اسپری گردید (در ضمن مقدار سلنیوم پایه در غذای تجاری مورد استفاده ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد). به‌منظور یکسان‌سازی شرایط، در مورد تیمار شاهد (فاقد نانو منابع سلنیوم) مقدار مساوی آب مقطر (فاقد سلنیوم) بر روی غذا اسپری گردید. غذاهای آماده شده به‌روش فوق به‌مدت سه ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. به‌منظور محافظت غذاها و جلوگیری از رها شدن نانو ذرات و ورود آن‌ها به محیط آب، غذاهای آماده شده به‌روش فوق، توسط لایه‌ای از ژلاتین گاوی پوشانده شدند (۲۱)؛ بدین‌منظور ابتدا محلول ۱۰٪ ژلاتین گاوی در آب مقطر تهیه و بر روی هر یک از انواع غذاها به‌میزان ۵۰ میلی‌لیتر از محلول ژلاتین به‌صورت یکنواخت اسپری گردید. در پایان غذاها به‌مدت ۳ ساعت دیگر در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. فرایند آماده سازی غذا به‌منظور جلوگیری از فساد و در دسترس بودن مواد افزودنی دو بار در هفته انجام گرفت.

فاکتورهای کیفی اسپرم

اسپرم‌گیری: مولدین نر پس از معاینه و بیهوشی توسط پودر گل میخک (۱۵۰ ppm) (۲۲) ابتدا بیومتری شده و پس از تعیین

طول و وزن با یک پارچه تمیز به‌خوبی خشک شده و با ماساز شکمی اقدام به اسپرم‌کشی گردید. برای این منظور از تیوب‌های ۲ میلی‌لیتری ابتدا با کاغذ آلومینیوم و پارافین خوب پوشانده شده، سپس از هر ماهی به‌طور جداگانه اسپرم‌گیری صورت گرفت و تا زمان استفاده در یخچال و یا بر روی یخ نگهداری شد. جهت ممانعت از بروز هر گونه آلودگی ناحیه شکمی توسط عواملی از قبیل آب، موکوس و ادرار، هر ماهی به‌دقت توسط حوله خشک شد (۲۳). برای بررسی فاکتورهای مختلف کمی و کیفی اسپرم ماهیان مورد مطالعه، در هر تیمار از ۱۲ مولد نمونه‌برداری صورت گرفت و برای بالابردن دقت کار فاکتورهای از جمله تراکم، مدت زمان تحرک، درصد اسپرم‌های متحرک و قابلیت بارورسازی اسپرم (آزمون لقاح) در سه تکرار اندازه‌گیری و ثبت شد.

حجم اسپرم: در مرحله اسپرم‌گیری جهت اندازه‌گیری حجم اسپرم، مقدار اسپرم به‌دست آمده از هر مولد را در داخل فالکن‌های مدرج ریخته و حجم آن بر حسب میلی‌لیتر محاسبه گردید (۲۴).

تراکم (غلظت) اسپرم: برای شمارش اسپرماتوزوئیدهای جمع آوری شده از مولدین ابتدا آن‌ها را با نسبت ۱ به ۴۰۰ با سرم فیزیولوژی رقیق نموده و سپس در لام مخصوص هموسیتمتر و میکروسکوپ فازکنتراست زمینه سیاه عمل شمارش را انجام داده و تراکم اسپرماتوزوئید براساس فاکتورهای از جمله میزان رقت، عمق لام، تعداد خانه‌های شمارش شده و تبدیل واحد حجم لام از میکرولیتر به میلی‌لیتر محاسبه و ثبت گردید (۲۵).



شکل ۱: نمایی از لام شمارش اسپرم

میزان اسپرماتوکریت: به‌منظور اندازه‌گیری میزان اسپرماتوکریت از اسپرم مولدین هر گروه سنی قبل از مخلوط نمودن آن‌ها نمونه برداری انجام گرفت. نمونه‌ها به لوله میکروهماتوکریت انتقال داده شدند (۲۶). سپس نمونه‌ها به‌وسیله دستگاه میکروسانتریفیوژ (سازنده شرکت Hittich آلمان) به‌مدت ۵ دقیقه و با دور ۷۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ گردید و به‌وسیله خط‌کش مخصوص سنجش درصد اسپرماتوکریت، میزان اسپرماتوکریت هر نمونه خوانده شد.

درصد اسپرم‌های متحرک (MOT): درصد اسپرم‌های فعال از طریق مشاهده نسبت اسپرم‌هایی که ۱۰ ثانیه پس از فعال شدن دارای حرکت رو به جلو باشند، تخمین زده شدند (۲۶). برای این

آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۸ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تایید نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف- اسمیرنف و جهت مشخص نمودن وجود اختلاف از نظر آماری از آنالیز واریانس (ANOVA: Analysis of Variance) استفاده گردید. از آزمون Tuckey به عنوان Post-hoc برای معنی دار بودن اختلاف میانگین‌ها و سطح معنی داری استفاده شد. جهت سنجش تاثیر پارامترهای اسپرم‌شناختی بر روی میزان لقاح، درصد چشم‌زدگی، تفریح و بازماندگی لارو از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way-ANOVA) استفاده شد. هم‌چنین از نرم‌افزار آماری Excel نسخه (Excel office 2007) به منظور رسم نمودارها استفاده شد.

آزمون لقاح: برای تعیین قدرت بارورسازی اسپرم از آزمون لقاح استفاده شد (Evans و Geffen (۲۸)، Nagler و همکاران (۲۷)). برای این منظور از یک مولد ماده تخم‌گیری صورت گرفت و براساس جدول ۱ انواع لقاح میان این مولد ماده و نرهای تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم در سه تکرار اجرا شد (جدول ۲).

جدول ۲: آزمایش لقاح به منظور تعیین قدرت بارورسازی اسپرم ماهیان مولد نر تغذیه شده با جیره غذایی حاوی مقادیر مختلف نانوذرات سلنیوم

شرح آمیزش	تیمار آزمایشی
ماده شاهد × نر شاهد	تیمار ۱ (شاهد)
ماده شاهد × نر تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم	تیمار ۲
ماده شاهد × نر تغذیه شده با جیره حاوی ۱ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم	تیمار ۳
ماده شاهد × نر تغذیه شده با جیره حاوی ۲ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم	تیمار ۴

نتایج

پارامترهای کیفی اسپرم مولدین نر: نتایج ارزیابی پارامترهای کیفی اسپرم مولدین نر قزل‌آلای رنگین‌کمان شامل حجم اسپرم، درصد اسپرم‌های متحرک، مدت زمان تحرک اسپرم، اسپرماتوکریت و تراکم اسپرم در تیمارهای تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم جیره در جدول ۳ آمده است. بیش‌ترین میزان حجم اسپرم مربوط به گروه تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم در جیره غذایی (۳۲/۵±۳۶/۴۰ میلی‌لیتر) و کم‌ترین میزان حجم اسپرم در تیمارهای شاهد و ۰/۵ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم (به ترتیب ۲۲/۲۵±۷/۱۴ و ۲۳/۶۷±۸/۳۲ میلی‌لیتر) مشاهده شد ($p < 0.05$). حجم اسپرم در تیمار چهارم به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمار شاهد و اول بود

منظور مقدار ۲ میکرولیتر اسپرم بر روی لام قرار داده شده و فعال کننده آب به آن اضافه شد.

مدت زمان تحرک اسپرم: زمانی است که پس از فعال‌سازی، ۹۵٪ اسپرم‌ها حرکت رو به جلو داشته باشند. به منظور ارزیابی تحرک اسپرم، پس از اسپرم‌گیری ۱۰ میکرولیتر اسپرم را بر روی لام قرار داده و توسط فعال‌کننده (آب)، فعال شد و مدت زمان تحرک تا زمانی که تمام اسپرم‌ها غیرفعال شوند، توسط کرنومتر ثبت شدند. در این بررسی اسپرم‌هایی به‌عنوان اسپرم‌های متحرک در نظر گرفته شدند که دارای حرکت رو به جلو باشند و آن‌هایی که دارای حرکت لرزشی بودند یا این‌که دور محور خود می‌چرخیدند به‌عنوان اسپرم‌های غیرمتحرک در نظر گرفته شدند. مدت زمانی که ۹۵٪ اسپرم‌ها تحرک خود را از دست دادند ثبت گردید (۲۷).

نتایج مربوط به زیست‌سنجی مولدین: بازیست‌سنجی مولدین مشخص گردید که طول کل ماهیان مولد نر مورد استفاده در این مطالعه از ۵۴/۳±۳/۰ سانتی‌متر در گروه تغذیه شده با ۰/۵ میلی‌گرم نانوسلنیوم تا ۵۸/۱±۲/۱ سانتی‌متر در گروه شاهد متغیر بود، ولی اختلاف معنی‌داری میان طول کل مولدین نر آزمایشی وجود نداشت. وزن ماهیان نیز از ۲/۲۸۰±۰/۳۰۵ کیلوگرم در گروه تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم تا ۲/۴۷۰±۰/۲۴۵ کیلوگرم در گروه تغذیه شده با ۱ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم متغیر بود، ولی اختلاف معنی‌داری میان وزن مولدین نر وجود نداشت (جدول ۱). لازم به ذکر است که در این پژوهش اختلاف معنی‌داری بین وزن و طول اولیه مولدین تیمارهای مختلف در ابتدای آزمایش وجود نداشت.

جدول ۱: مقایسه میانگین طول کل و وزن مولدین نر آزمایشی (میانگین ± انحراف معیار)

تیمارهای آزمایشی	طول کل (سانتی‌متر)	وزن (کیلوگرم)
شاهد	۵۸/۱ ± ۲/۱	۲/۴۵۵ ± ۰/۲۵۵
۰/۵ میلی‌گرم نانوسلنیوم	۵۴/۳ ± ۳/۰	۲/۳۰۰ ± ۰/۲۸۰
۱ میلی‌گرم نانوسلنیوم	۵۷/۲ ± ۲/۷	۲/۴۷۰ ± ۰/۲۴۵
۲ میلی‌گرم نانوسلنیوم	۵۶/۱ ± ۳/۲	۲/۲۸۰ ± ۰/۳۰۵

تجزیه و تحلیل آماری: درصد لقاح به‌صورت نسبت میان تعداد تخم‌های لقاح یافته و تعداد کل تخم‌های استفاده شده بیان شده است. میزان چشم‌زدگی به‌صورت درصد تخم‌های چشم زده نسبت به کل تخم‌های لقاح یافته محاسبه و ثبت گردید. درصد تخم‌گشایی نیز از طریق نسبت میان تعداد لاروهای زنده پس از تفریح و تعداد کل تخم لقاح یافته می‌باشد. تمام آنالیزهای مربوط به لقاح، چشم‌زدگی و تخم‌گشایی به‌صورت درصد محاسبه شده و به‌صورت (متوسط ± انحراف معیار استاندارد) گزارش شد (۲۹). در تحقیق حاضر اطلاعات جمع

($P < 0.05$)، ولی اختلاف معنی‌داری با تیمار سوم نشان نداد ($P > 0.05$). نتایج پس از آزمون آماری دانکن اختلاف معنی‌داری را میان حجم

اسپرم در تیمارهای شاهد، اول و دوم نشان نداد ($P > 0.05$).

جدول ۳: مقادیر پارامترهای کیفی اسپرم مولدین نر قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم جیره

تیمار	حجم اسپرم (ml)	اسپرم‌های متحرک (درصد)	مدت زمان تحرک اسپرم (ثانیه)	اسپرماتوکریت (درصد)	تراکم اسپرم (cells × 10 ⁹ /ml)
شاهد	22/25 ± 7/14 ^b	86/80 ± 7/56 ^a	49/83 ± 19/72 ^b	19/80 ± 6/14 ^a	3/92 ± 0/44 ^b
0/5 میلی‌گرم نانوسلنیوم	23/67 ± 8/32 ^b	88/60 ± 8/05 ^a	107/60 ± 38/84 ^a	19/40 ± 2/30 ^a	4/70 ± 1/44 ^{ab}
1 میلی‌گرم نانوسلنیوم	30/20 ± 6/37 ^{ab}	89/40 ± 7/67 ^a	129/00 ± 52/60 ^a	22/80 ± 6/72 ^a	5/30 ± 0/39 ^{ab}
2 میلی‌گرم نانوسلنیوم	36/40 ± 5/32 ^a	95/60 ± 2/61 ^a	145/80 ± 27/84 ^a	26/20 ± 10/76 ^a	6/49 ± 1/53 ^a

حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار و حروف غیرمشترک نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) میان تیمارهای آزمایشی می‌باشد.

بحث

در این مطالعه اثرات نانوذرات سلنیوم جیره بر کیفیت اسپرم و عملکرد تولیدمثلی مولدین نر قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی شد. نتایج نشان داد که نانوذرات سلنیوم جیره در درجات مختلفی موجب بهبود کیفیت اسپرم و عملکرد تولیدمثلی در مولدین نر قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود.

پارامترهای کیفی اسپرم مولدین

حجم اسپرم: با بررسی منابع علمی که به بررسی تاثیر سلنیوم بر کیفیت اسپرم پرداخته‌اند، معمولاً به حجم اسپرم به‌عنوان یک فاکتور کیفی اسپرم کم‌تر اشاره شده است. با این وجود در مطالعه حاضر تاثیر واضح جیره غذایی حاوی نانوذرات سلنیوم بر حجم اسپرم مشخص است. برخی مطالعات از جمله مطالعه Safarinejad (۳۰) در انسان، مطالعه Marai و همکاران (۳۱) در گوسفند نر، مطالعه Horkey (۳۲) در خوک نر به نقش سلنیوم در افزایش حجم اسپرم در هر انزال اشاره کرده‌اند. برعکس در مطالعه Lovercamp و همکاران، مقدار منی و کیفیت اسپرم در گراز نر تحت تاثیر سلنیوم جیره قرار نگرفت (۳۳). پس اگرچه برخی مطالعات تاثیر مثبت سلنیوم را نشان می‌دهند، مطالعات دیگر آن را رد می‌کنند. این می‌تواند به دلیل استفاده از دوز خیلی کم یا دوره کوتاه درمان باشد. چون مکمل‌ها باید به غلظت خاصی برسند (۳۴). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که دستکاری جیره مولدین و اضافه کردن دوز مناسب نانوذرات سلنیوم به آن، موجب افزایش تولید اسپرم در مولدین نر قزل‌آلای رنگین‌کمان شده و حجم اسپرم را در فصل تکثیر این گونه افزایش می‌دهد. همچنین کار مشابه تحقیق حاضر، در مطالعه آقای Kazemi و همکاران، تاثیر نانو ذرات روی بروی شاخص‌های کمی اسپرم در مولدین نر قزل‌آلای رنگین‌کمان که نتایج موجود نشان داد، روی معدنی رژیمی دارای پتانسیل برجسته‌ای در بهبود شاخص‌های کیفیت اسپرم و پلاسمای

در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم روند افزایشی در درصد اسپرم‌های متحرک همراه با افزایش غلظت نانو ذرات سلنیوم در جیره مشاهده شد (جدول ۳) و میانگین درصد اسپرم‌های متحرک در ماهیان نر تیمار تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم بیش‌تر از سایر تیمارها بود (۹۵/۶۰ ± ۲/۶۱ درصد)، اما از لحاظ آماری اختلاف بین تیمارها معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). مدت زمان تحرک اسپرم در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم) به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از مدت زمان تحرک اسپرم در گروه شاهد بود که با جیره فاقد نانوذرات سلنیوم تغذیه شده بودند ($P < 0.05$). هم‌چنین با توجه به جدول نتایج مقادیر پارامترهای کیفیت اسپرم ماهیان مورد بررسی (جدول ۳)، در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذرات سلنیوم روند افزایشی در مدت زمان تحرک اسپرم همراه با افزایش غلظت نانوذرات سلنیوم مشاهده شد، به‌طوری‌که بیش‌ترین مدت زمان تحرک اسپرم مربوط به ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم بود (۱۴۵/۸۰ ± ۲۷/۸۴ ثانیه)، اما از لحاظ آماری این اختلاف معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). بیش‌ترین میزان اسپرماتوکریت در ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانوذرات سلنیوم مشاهده شد (۲۶/۲۰ ± ۱۰/۷۶ درصد) که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری را با تیمارهای شاهد، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم نانوسلنیوم نشان نداد ($P > 0.05$) (جدول ۳). بیش‌ترین تراکم اسپرم مربوط به گروه تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانو ذرات سلنیوم در کیلوگرم جیره بود ($6/49 \pm 1/53 \times 10^9$) اسپرم در میلی‌لیتر منی) و کم‌ترین میزان تراکم اسپرم در مولدین تیمار شاهد مشاهده شد ($3/92 \pm 0/44 \times 10^9$) اسپرم در میلی‌لیتر منی) که اختلاف معنی‌داری میان این دو تیمار مشاهده شد ($P < 0.05$). نتایج پس از آزمون آماری دانکن اختلاف معنی‌داری را میان تراکم اسپرم در تیمارهای ۰/۵ میلی‌گرم، ۱ میلی‌گرم و ۲ میلی‌گرم نانوسلنیوم نشان نداد ($P > 0.05$).

سلیوم جیره بر افزایش درصد اسپرم‌های متحرک اشاره نموده‌اند (۴) Khakhsour (۴۴) در ماهی کاراس طلایی؛ Ghazanfarpour و همکاران (۳۶) در موش؛ Mohammadi و همکاران (۴۵)؛ Agarwal و همکاران (۴۶)؛ Agrawal و همکاران (۳۴)؛ Mac-Pherson و همکاران (۴۷) در انسان). علاوه بر این در برخی مطالعات به کاهش درصد اسپرم‌های متحرک در نتیجه کمبود سلیوم در جیره غذایی عنوان شده است که می‌توان به مطالعه Olson و همکاران در موش (رت) (۳۵) و همچنین مطالعه Sánchez-Gutiérrez و همکاران در موش (۴۸) اشاره نمود. در مطالعه دیگر، Taghipour و Vakili، اثرات نانوذرات نقره بر خصوصیات کمی و کیفی اسپرم بلدرچین ژاپنی دریافتند که افزودن نانوذرات نقره به منی بلدرچین در سطوح ۰/۱۲۵ و ۰/۲۵۰ قسمت در میلیون درصد جنبایی و جنبایی پیش‌رونده اسپرم را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. زنده‌مانی اسپرم در سطح ۰/۱۲۵ قسمت در میلیون کاهش یافت (۴۹). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که نانوذرات نقره با تأثیر بر عملکرد اسپرم ممکن است اثرات سمی روی اسپرم داشته باشند و سبب مرگ اسپرم شوند. مطالعات فوق نشان می‌دهند که در تمامی موارد اضافه نمودن سلیوم به جیره غذایی منجر به بهبود و افزایش درصد اسپرم‌های متحرک در جنس نر شده است. در مطالعه حاضر نیز نانوذرات سلیوم جیره موجب افزایش درصد اسپرم‌های متحرک نسبت به گروه شاهد گردید ولی تفاوت بین گروه‌های مختلف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

مدت زمان تحرک اسپرم: در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف نانوذرات سلیوم روند افزایشی در مدت زمان تحرک اسپرم همراه با افزایش غلظت نانوذرات سلیوم مشاهده شد. مطالعات مختلفی تأثیر افزایشی سلیوم جیره بر افزایش مدت زمان و میزان تحرک را نشان داده‌اند که از آن جمله می‌توان به مطالعه Mohammadi و همکاران در قوچ عربی (۵۰)، Ghazanfarpour و همکاران در موش‌های مسن (۳۶)، مطالعه Nasri و همکاران (۵۱)، Scott و همکاران (۵۲)، اشاره نمود. با توجه به نقش مواد نانو در متابولیت سلنوپروتئین گلوکوتائون پراکسیداز ۴ میتوکندریایی که در غشاهای درون سلولی به‌ویژه بیضه‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان درون سلولی عمل می‌نماید. همچنین در مطالعه مشابه آقای Rahimi و Sourinejad (۵۳)، بررسی تأثیر نانو ذرات نقره بر آبشش تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus* با استفاده از روش HNMR، دریافتند که میزان متابولیت‌های گلیسین، لوسین و والین در تیمار آب‌شیرین نمونه‌برداری شده در روز دهم نسبت به دیگر تیمارها افزایش معنی‌دار از خود نشان داد و در نتیجه‌گیری کلی، متابولیت گلوکوتائون به‌عنوان نشانگر زیستی و عامل حساس به تغییر میزان نانوذرات نقره در بافت آبشش تاسماهی ایرانی شناسایی شد. بنابراین نتایج مطالعات صورت گرفته که در فوق به

منی و عملکرد تولیدمثل در مولدین نر قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد (۴). لذا توصیه می‌شود که در این گونه مطالعات در آینده حجم اسپرم مد نظر قرار گیرد تا بتوان در خصوص تأثیر سلیوم بر حجم اسپرم به نتیجه‌گیری بهتری دست یافت و مکانیسم اثرگذاری سلیوم بر افزایش حجم اسپرم را مشخص نمود.

تراکم اسپرم و اسپرماتوکریت: غلظت سلیوم پلاسما سمینال به‌طور مثبتی با تراکم اسپرماتوزوآ ارتباط دارد (۳۵). در پژوهش‌های مختلفی از جمله Ghazanfarpour و همکاران (۳۶)، در موش‌های مسن، مطالعه Olson و همکاران (۳۷) در موش، مطالعه Agarwal و همکاران (۳۴) و همچنین Bleau و همکاران (۳۸)، در مردان اثرات مثبت سلیوم بر افزایش تعداد اسپرم را نشان داده‌اند. علاوه بر این، یافته‌های Eidi و همکاران، نشان داد که ارتباط مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم گلوکوتائون پراکسیداز پلاسما سمینال و تراکم اسپرم‌ها وجود دارد (۳۹). نتایج مطالعات ذکر شده در بالا همگی در تطابق با پژوهش حاضر بوده که نشان می‌دهد با افزایش سلیوم جیره از ۰/۵ به ۲ میلی‌گرم در جیره غذایی تراکم اسپرم افزایش می‌یابد. این که آیا دزهای بالاتر با همین روند منجر به افزایش تراکم اسپرم می‌شود، نیاز به تحقیقات بیشتر دارد و باید در پژوهش‌های بعدی بررسی گردد. در نقطه مقابل، در برخی از تحقیقات اثر مفید و افزایشی سلیوم جیره غذایی بر تعداد اسپرم و میزان اسپرماتوکریت گزارش نشده است (Shi و همکاران (۴۰) بزهای نر نژاد بوئر (Boer)؛ Iwanier و Zachara (۴۱)؛ Lovercomp و همکاران (۳۳)، در خوک نر؛ Mohseni Kouchehesfahani و همکاران (۴۲) در موش صحرایی). نتایج مطالعات فوق مبنی بر عدم تأثیر مثبت نانوذرات سلیوم جیره بر میزان اسپرماتوکریت و تعداد اسپرم است. این می‌تواند به دلیل استفاده از دوز خیلی کم سلیوم یا دوره کوتاه درمان باشد (۳۴). پس اگرچه برخی مطالعات تأثیر مثبت سلیوم را بر کیفیت اسپرم نشان می‌دهند، مطالعات دیگر آن را رد می‌کنند. همچنین در مطالعه Falahat Naser Abad و همکاران، تأثیر نانوذرات سلیوم جیره بر فاکتورهای کمی اسپرم در مولدین ماده قزل‌آلای رنگین‌کمان روند افزایشی درصد لقاح همراه با افزایش غلظت نانو ذرات سلیوم مشاهده شد (۴۳). بیش‌ترین هم‌آوری مطلق در مولدین تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم سلیوم بود که اختلاف معنی‌داری با تیمار تغذیه شده با یک میلی‌گرم سلیوم داشت.

درصد اسپرم‌های متحرک: در مطالعه حاضر درصد اسپرم‌های متحرک از $86/80 \pm 7/56$ در تیمار شاهد تا $95/60 \pm 2/61$ در ماهیان تغذیه شده با ۲ میلی‌گرم نانوذرات سلیوم متغیر بود که تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌داری نبودند. مطالعات مختلفی به اثرات

10. **Cesh, A., Toth, G.P., Christ, S.A. and Dabrowski, K., 2012.** Effect of cryopreservation and theophylline on motility characteristics of lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*) spermatozoa. *Theriogenology*. 45: 665-672.
11. **Behne, D., Hofer, T. and von Berswordt-Wallrabe, R., 1982.** Selenium in the testis of the rat: studies on its regulation and its importance for the organism. *J. Nutr.* 112: 1682-1687.
12. **Shamberger, R.J., Adreone, T.L. and Willis, C.E., 1983.** Antioxidant and cancer IV. Initiating activity of malonaldehyde as a carcinogen. *J. Natl Cancer Inst.* (53): 1771-1773.
13. **Behne, D., Weiler, H. and Kyriakopoulos, A., 1996.** Effects of selenium deficiency on testicular morphology and function in rats. *J Reprod Fertil.* 106: 291-297.
14. **Combs, Jr.G. and Combs, S., 1986.** The nutritional biochemistry of selenium. *Annual review of nutrition.* 4: 257-280.
15. **Tang, G., Beckage, B., Smith, B. and Miller, P.A., 1991.** Molecular cloning and expression of the regulatory (RG1) subunit of the glycogen-associated protein phosphatase. *J Biol Chem.* 266(24): 15782-15789.
16. **Van Ryssen, J.B.J. and Bradfield, G.D., 1992.** An assessment of the selenium, copper and zinc status of sheep on cultivated pastures in the Natal Midlands. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 63: 156-161.
17. **Flohe, L., 2007.** Selenium in mammalian spermiogenesis. *Biol. Chem.* 388: 987-995.
18. **Beckett, K. and Bruce, H., 2005.** Challenging Medicine: Law, Resistance, and the Cultural Politics of Childbirth. *Law and Society Review.* 39(5): 125-169.
19. **Ursini, F., Heim, S., Keiss, M., Maiorino, M., Roveri, A., Wissing, J. and Flohe, L., 1999.** Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science.* 285: 1393-1396.
20. **Irvine, S., Cawood, E., Richardson, D., MacDonald, E. and Aitken, J., 1996.** Evidence of deteriorating semen quality in the United Kingdom: birth cohort study in 577 men in Scotland over 11 years. *BMJ.* 312: 467-471.
21. **Ramsden, S.R., Smith, T.J., Shaw, B.J. and Handy, R.D., 2009.** Dietary exposure to titanium dioxide nanoparticles in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): no effect on growth, but subtle biochemical disturbances in the brain. *Ecotoxicology.* 18: 939-951.
22. **Mehrabi, Y., 2002.** Anesthesia and reproduction twice a year of rainbow trout. Aslani Publications, Tehran. 16-23. (In Persian)
23. **Dreanno, C., Suquet, M., Desbruyeres, E., Cosson, J., Delliou, H. and Billard, R., 1998.** Effect of urine on semen quality in turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture.* 169: 247-262.
24. **Billard, R. and Gillet, C., 1981.** Ageing of eggs and temperature potentialization of micropollutant effects of the Aquaculture medium on trout gametes. *Cahier du Laboratoire de Montereau.* 12: 35-42.
25. **Lahnsteiner, F., Mansour, N., McNiven, M.A. and Richardson, G.F., 2009.** Fatty acids of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) semen: composition and effects on sperm functionality. *Aquaculture.* 298: 118-124.
26. **Aas, G.H., Refstie, T. and Gjerde, B., 1991.** Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture.* 95: 125-132.

آن‌ها اشاره شد با نتایج مطالعه حاضر مبنی بر اثرات مثبت غذای غنی شده با سلنیوم بر کیفیت اسپرم و مدت زمان تحرک اسپرم هم‌خوانی دارد. در نتیجه‌گیری نهایی در خصوص تاثیر سلنیوم جیره بر پارامترهای کمی و کیفی اسپرم می‌توان به این نتیجه اشاره نمود که حجم و تعداد اسپرم در برخی مطالعات تحت تاثیر میزان سلنیوم جیره قرار نگرفته است ولی در مورد درصد اسپرم‌های متحرک و مدت زمان تحرک در تمامی مطالعات مرور شده در این مقاله افزایش میزان تحرک همراه با افزایش سلنیوم جیره گزارش شده است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاران گرامی در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهیدمطهری یاسوج جهت فراهم نمودن امکانات آزمایشگاهی برای اجرایی شدن این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. **Kumar, S., 2003.** Management of infertility due to mineral deficiency in dairy animals. *Proceedings of ICAR summer school on Advance diagnostic techniques and therapeutic approaches to metabolic and deficiency diseases in dairy animals.* Held at IVRI, Izatnagar, UP (15th July to 4th Aug.). 128-137.
2. **Hedaoo, M., Khllare, K., Meshram, M., Sahatpure, S. and Patil, M., 2008.** Study of some serum trace minerals in cyclic and non-cyclic surti buffaloes. *Vet. World.* 1: 71-72.
3. **Ahsan, U., Kamran, Z., Raza, I., Ahmad, S., Babar, W., Riaz, M.H. and Iqbal, Z., 2014.** Role of selenium in male reproduction-A review. *Animal Reproduction Science.* 146: 55-62.
4. **Kazemi, E., Sourinejad, I., Ghaedi, A., Johari, S.A. and Ghasemia, Z., 2021.** Effect of different dietary zinc sources (mineral, nanoparticulate, and organic) on quantitative and qualitative semen attributes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture.* 515: 734529.
5. **Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B., Hafeman, D.G. and Hoekstra, W.G., 1973.** Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science.* 179: 588-590.
6. **Brown, D.G. and Burk R.F., 1973.** Selenium retention in tissues and sperm of rats fed a torula yeast diet. *J. Nutr.* 103: 102-108.
7. **Davis, T., Yamada, M., Elgort, M. and Saier, M.H., 1988.** Nucleotide sequence of the mannitol (mtl) operon in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* 2: 405-412.
8. **Federal Register. 2002.** Food additive permitted in feed and drinking water: Selenium yeast. *Federal Reg.* 67(137): 46850-46851.
9. **Johari, S., 2014.** Toxicity effect of colloidal silver nanoparticles on fertilization capacity and reproduction success of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Nanomedicine Research.* 1: 00001.

42. **Mohsenikouchesfehni, H., Angaji, A., Rashidipouya, S., Abdollahi, P. and Govahi, T., 2015.** Study of damages induced by fungicide propiconazole on testicular tissue and process of spermatogenesis and protective effects of selenium in male Sprague Dawley rat. *Armaghan-e-Danesh Journal*. 20(1): 19-30. (In Persian)
43. **Falahat Naser Abad, E., Ziaei Nejad, S., Ghaedi, A., Seyedi, M. and Moradian, S.H., 2020.** Effects of enriched food with selenium nanoparticles on breeding efficiency of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 28(6): 79-88.
44. **Khakshour, A., 2015.** Evaluation of the effect of dietary organic selenium on quality indicators of male and female gametes and reproduction quality of goldfish (*Carassius auratus gibelio*). Master's thesis, Tarbiat Modares University, Faculty of Natural Resources. (In Persian)
45. **Mohammadi, Sh., Movahedin, M. and Moula, S.J., 2008.** Investigating the antioxidant effects of selenium on sperm parameters and testicular structure of old and young rats. *Journal of Fertility and Infertility*. 9(3): 229-237. (In Persian)
46. **Agarwal, A., Prabakaran, S.A. and Said, T.M., 2005.** Prevention of oxidative stress injury to sperm. *Journal of Andrology*. 26: 654-660.
47. **MacPherson, A., Scott, R. and Yates, R., 1993.** The effect of selenium supplementation in subfertile males. *Trace Elements in Man and Animals (TEMA8)*. Anke, M., Meissner, D. and Mills, C.F., (Editors). Media Touristik, Gersdorf. 19: 566-570.
48. **Sánchez-Gutiérrez, M., García-Montalvo, E., Izquierdo-Vega, J. and Del Razo, L., 2008.** Effect of dietary selenium deficiency on the in vitro fertilizing ability of mice spermatozoa. *Cell biology and toxicology*. 24: 321-329.
49. **Taghipour, S. and Vakili, R., 2020.** Effects of silver nanoparticles on quantity and quality characteristics of Japanese quail sperm. *Journal of Animal Environment*. 12(4): 245-250. (In Persian)
50. **Mohammadi, P., Tabatabaei Vakili, S., Mamouei, M., Fayazi, J. and Zareai, M., 2017.** The interaction effects of vitamin E and selenium on Arabian ram spermatozoa quality parameters during semen storage in liquid condition. *Animal Science Journal*. 30(114): 43-56. (In Persian)
51. **Nasri, S., Amidi, F. and Rezaeian, Z., 2014.** Effect of Selenium on the motility, morphology and viability of sperm cells after freezing and thawing procedure. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences*. 18(1): 11-17. (In Persian)
52. **Scott, R., MacPherson, A., Yates, R., Hussain, B. and Dixon, J., 1998.** The effect of oral selenium supplementation on human sperm motility. *British journal of urology*. 82: 76-80.
53. **Rahimi, Kh. And Sourinejad, I., 2020.** Investigating the effects of silver nanoparticles on the gills of Iranian sturgeon *Acipenser persicus* using HNMR. *Journal of Animal Environment*. 12(4): 403-410. (In Persian)
27. **Nagler, J.J., Parsons, J.E. and Cloud, J., 2000.** Single pair mating indicates maternal effects on embryo survival in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*. 184: 177-183.
28. **Geffen, A.J. and Evans, J.P., 2000.** Sperm traits and fertilisation success of male and sex-reversed female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 182: 61-72.
29. **Ottesen, H.B., 2009.** CPTU med resistivitetsmåling. Master thesis (in Norwegian), NTNU.
30. **Safarinejad, M.R., 2009.** Efficacy and safety of omega 3 for treatment of early-stage Peyronie's disease: A prospective, randomized, double-blind placebo controlled study. *J Sex Med*. 6: 1743-1754.
31. **Marai, I.F.M., El-Darawany, A.A., Ismail, E.A. and Abdel-Hafez, M.A.M., 2009.** Reproductive and physiological traits of Egyptian Suffolk rams as affected by selenium dietary supplementation and housing heat radiation effects during winter of the sub-tropical environment of Egypt. *Arch. Tierz*. 52: 402-409.
32. **Horky, P., 2012.** The effect of various forms (organic, inorganic) and levels of selenium on the laboratory values of the ejaculate of breeding boars in summer season. *Res. Pig Breed*. 6: 24-32.
33. **Lovercamp, K.W., Stewart, K.R., Lin, X. and Flowers, W.L., 2013.** Effect of dietary selenium on boar sperm quality. *Animal Reproduction Science*. 138: 268-275.
34. **Agarwal, A., Nallella, K.P., Allamaneni, S.S. and Said, T.M., 2004.** Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reproductive biomedicine online*. 8: 616-627.
35. **Oldereid, N.B., Thomassen, Y. and Purvis, K., 1998.** Selenium in human male reproductive organs. *Human Reprod*. 13: 2172-2176.
36. **Ghazanfarpoor, H., Talebi, E., Ghasemi, F. and Haghghat Jahromi, M., 2014.** The Effect of Selenium Nanoparticles Antioxidant on The Sperm Parameters of Mature and Adult Rats. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*. 4(1): 111-119. (In Persian)
37. **Olson, G.E., Winfrey, V.P., Hill, K.E. and Burk, R.F., 2004.** Sequential development of flagellar defects in spermatids and epididymal spermatozoa of selenium-deficient rats. *Reproduction*. 127: 335-342.
38. **Bleau, G., Lemarbre, J., Faucher, G., Roberts, K.D. and Chapdelaine, A., 1984.** Semen selenium and human fertility**Supported by the Medical Research Council (MRC) of Canada, Fonds de Recherches en Santé du Québec (FRSQ), and Programme de Formation de Chercheurs et d'Action Concertée (FCAC), Province of Quebec. *Fertility and Sterility*. 42: 890-894.
39. **Eidi, M., Pouyan, O., Eidi, A., Fazaeli, R., Dadgar, M. and Shahmohammadi, P., 2007.** Effect of seminal plasma selenium concentration on semen parameters. *Medical Sciences*. 17(2): 81-86. (In Persian)
40. **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 parameters and Se concentration in goat seminal plasma. *Anim Feed Sci Tech*. 157(12): 104-108.
41. **Iwanier, K. and Zachara, B.A., 1995.** Selenium supplementation enhances the element concentration in blood and seminal fluid but does not change the spermatozoal quality characteristics in subfertile men. *Journal of Andrology*. 16: 441-447.