تأثير فيتامين C والسيلينيوم في بعض الصفات الفسلجية والتناسلية في الديكة البالغة والمعرضة للكرب ألتأكسدي المستحث ببيروكسيد الهيدروجين

محمود سالم محمد شيت المعاضيدي و أشواق أحمد حسن
فرع الفسلجة والكيمياء الحياتية والادوية/ جامعة الموصل/ كلية الطب البيطري

الخلاصة

صمم البحث لمعرفة تأثير المعاملة بفيتامين C بجرعة 450 ملغم/كغم عليقه وسيلينات الصوديوم بجرعة 0.5 ملغم/كغم عليقه في ذكور أمهات البيض الليكهورن الأبيض البالغة (بعمر 30 أسبوع) المعرضة للكرب ألتأكسدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين بتركيز 0.5% مع ماء الشرب و لمدة 6 أسابيع على الكفاءة التناسلية. تم جمع السائل المنوي خلال مدة الدراسة (0، 2، 4، 6) أسابيع ، تبين من الدراسة الحالية أن المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين أدت إلى حدوث انخفاض معنوي في وزن الجسم و تركيز النطف و الحركة الجماعية والفردية للنطف طيلة مدة التجربة ومستوى هرمون التستوستيرون و مستوى كلوتاثايون نسيج الخصية في الأسبوع السادس من المعاملة ، رافقها ارتفاع معنوي في النسبة المئوية للنطف الميتة والمشوهة ومستوى المالونداياليديهايد لنسيج الخصية مقارنة مع مجموعة السيطرة، وأظهرت التغيرات المرضية النسيجية للخصية وجود نخر وتؤسف في الخلايا المبطنة للنبيبات المنوية وتنكس فجوي للخلايا الساندة وسقوطها في تجويف النبيب المنوي وحدوث النخر في الخلايا البينية. أظهرت المعاملة بفيتامين C و سيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين ارتفاعاً معنوياً في الوزن الجسم ، و تركيز النطف و الحركة الجماعية والفردية طيلة مدة التجربة وفي مستوى هرمون التستوستيرون ومستوى الكلوتاثايون صاحبها انخفاضاً معنوياً في النسبة المئوية للنطف الميتة و المشوهة ومستوى المالونداياليديهايد بالمقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجينً ، فضلاً عن تحسن الصورة النسيجية للنبيبات المنوية حيث لوحظ الانقسام الخيطي للخلايا المولدة للنطف من خلال انتظامها في محيط النبيب ، نستنتج من الدراسة الحالية أن مضادات الأكسدة قد عكست التأثيرات السلبية التي سببها الكرب ألتأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين في بعض المظاهر الفسلجية والتناسلية في الديكة البالغة.

Effect of Vitamin C and Selenium on Some Physiological and Reproductive Characters in Adult Roosters Exposed to Oxidative Stress Induced by Hydrogen Peroxide

MSMS AL-Ma'atheedi and A.A. Hassan

Department of Physiology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Iraq

Summary

The present study was designed to investigate the effect of Vitamin C (450 mg/kg diet) and sodium selenite (0.5 mg/kg diet) in adult white Leghorn male chickens (30 weeks of age), whose concomitantly exposed to oxidative stress induced by hydrogen peroxide (0.5%) supplemented with drinking water for 6 weeks on reproductive performance. Semen were collected at 0, 2, 4 and 6weeks, The study results showed that hydrogen peroxide treatment caused a significant decrease in the body weight, sperm concentration, mass motility and individual motility during experimental period. Also a decrease in testosterone and testis glutathione concentration at the 6^{th} week of the treatment, accompanied with a significant increase in dead and abnormal sperm percentage, testis malondialdehyde level compared with the control group.

Histopathological changes revealed presence of necrosis and sloughing in the epithelial lining of the semineferous tubules and vacuolar degeneration of the supporting cells that fall in the lumen of the semineferous tubules and necrosis of interstitial cells. Vitamin C and

sodium selenite with hydrogen peroxide caused a significant increase in body weight, sperm concentration, mass motility and individual motility during the experimental period, testosterone and glutathione level, accompanied with a significant decrease in dead and abnormal sperm percentages and Malondialdehyde level compared with hydrogen peroxide. In addition to the improvement in the histological picture of the semineferous tubules, mitosis germ cells were observed through their arrangement in circular tubules. It was concluded from this study that Vitamin C and Sodium selenite reverse the adverse effects produced by hydrogen peroxide on certain physiological and reproductive aspects in adult male chickens.
Key word: Vitamin C, sodium selenite, semen analysis, glutathione and malondialdehyde.

المقدمة

تتعرض الدواجن إلى الإجهاد مثل ارتفاع درجة حرارة المناخ والازدحام أو أي عامل من العوامل التي تؤدي إلى الأذى التأكسدي، تزداد حاجة الجسم لفيتامين C ويبدو أن الحاجة إلية تفوق تلك الكمية التي يكون بمقدور الجسم تركيبها أو تصنيعها وبهذا يصبح من الضروري إضافة كمية منه إلى العليقة (1) كما أن التصنيع الحيوي لفيتامين C في الأفراخ قد لايكون متطوراً بشكل كامل لغاية عمر أسبوعين تقريباً، لذا بات من الضروري إضافته إلى العليقة للأفراخ النامية (2) يؤدي فيتامين C وظائف فسلجية تتعلق بكفائته بوصفه عاملاً مختزلاً او واهباً للإلكترون إذ يشارك في العديد من التفاعلات الأنزيمية المهمة، مؤدياً إلى تصنيع الأحماض الامينية والكولسترول والكاتيكول امين والكارنتين Carnitine والعديد من الهرمونات البيتيدية او يحافظ على الايونات المعدنية في حالتها المختزلة من خلال التفاعلات المحفزة بوساطة Mono and Dioxygenase (3). يشابه تركيب فيتامين C تركيب السكريات الاحادية بصيغة (L) وهو فعال من الناحية الفسلجية ويؤثر في مناطق واسعة من الجسم، حيث يتمركز في الدم والسائل الخلالي للخلايا، مما يجعله مضاداً للأكسدة فعالاً وحيوياً(4). ينتقل فيتامين C الى الخلايا بوساطة الإنتشار البسيط عن طريق نواقل الكلوكوز (5)، كما ينقل بوساطة النقل الفعال إلى الخلايا بوساطة النواقل المعتمدة على الصوديوم (6).وجد أن فيتامين C يزيد من إمتصاص السيلينيوم في أمعاء الدواجن (7)، يشارك فيتامين C في العديد من التفاعلات والوظائف داخل الجسم ومن ضمنها ايض الستيرويدات والأداء التناسلي وتكوين النطف (8) وله دور في تخليق الهرمونات الجنسية مثل التستوستيرون الذي يعد ضرورياً للكفاءة التناسلية في الذكور وتحسين الخصوبة والفقس في ذكور امهات فروج اللحم (9)، ويعد سيلينوسستين Selenocystine الصيغة الفعالة للسيلينيوم ويتواجد في المواقع الفعالة للانزيمات الحاوية على السيلينيوم مثل كلوتاثايون بيروكسيديز الذي يتكون من أربع وحدات فرعية Subunits كل وحدة تمتلك ذرة واحدة من عنصر السيلينيوم، وهي ترتبط مع الحامض الاميني السستين Cysteine بشكل Selenocysteine، أي يمثل السيلينيوم المجموعة الرابطة Prosthetic group للأنزيم، إذ يحل السيلينيوم محل الكبريت في السستين Cysteine وبذلك يشكل الجزء الفعال من الأنزيم (10) يتواجد الانزيم في سايتوبلازم ومتقدرات الخلايا وبالأخص خلايا الدم الحمر والنطف وفي أنسجة الكبد والبلازما.

المواد وطرائق العمل

جرت الدراسة في بيت الحيوانات في كلية الطب البيطري جامعة الموصل. وللمدة من 2008/9/4 ولغاية2009/2/1 حيث تم استخدام (40) ديك لآباء أمهات البياض الليكهورن الأبيض هولندية المنشأ من نوع بوڤانس Bovans بعمر30 أسبوعاً. تم الحصول عليها من حقل المشرق لتربية الدواجن المحدودة في منطقة الحمدانية / الموصل . وعدت المدة ما قبل التجربة 2008/9/4 ولغاية 2008/11/30 مدة لتأقلم الطيور على جو القاعة، كما تم خلال تلك المدة تدريب الديكة على الاستجابة لجمع السائل المنوي ، تم تقديم العلف والماء بتوقيت وبتسلسل ثابت للمجاميع ، اما الماء فقد قدم بصورة حرة *ad libitum* طيلة مدة التجربة .

تضمنت التجربة (4) مجاميع بواقع (10) ديكه/ مجموعة وقسمت المجاميع كالأتي: مجموعة السيطرة : تناولت الديكة العليقة القياسية ، ماء اعتيادي طول مدة التجربة،ومجموعة المعاملة ببيركسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز0.5% مع ماء الشرب (11)، ومجموعة المعاملة بفيتامين C (450 ملغم/كغم عليقة) (12و11) مع بيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب ، ومجموعة المعاملة بسيلينات الصوديوم (0.5 ملغم / كغم عليقة) (13) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب لمدة 6 أسابيع . و سجلت اوزان الديكة كل أسبوعين لجميع المجاميع.

تم تقييم السائل المنوي للديكة والتي تتم من خلال جمع السائل المنوي الموصوفة من قبل (14) وخلال مدة الدراسة وتضمنت الفحوصات الآتية ، تركيز النطف وتم استخدام جهاز المطياف اللوني (Sherwood Colorimeter scientific Ltd, UK) (15)، الحركة الجماعية والفردية للنطف، النسبة المئوية للنطف الميتة والمشوهة،قياس مستوى المالوندايالديهايد في نسيج الخصية وحسب طريقة (16) ومستوى الكلوتاثايون في نسيج الخصية وفق طريقة (17). تقدير مستوى هرمون التستوستيرون في مصل الدم باستخدام عدة الفحص الجاهزة (Kit) المجهزة من شركة (Bio Chech, Inc) وباستعمال تقنية الاليزا ELISA (ELISA Awareness-Stat Fax (3200) ، الوزن النسبي للخصيتين، الفحص النسيجي للخصية.

تم تحليل البيانات إحصائيا باستخدام تحليل التباين الثنائي أما بالنسبة لوزن الجسم الحي ولفحوصات الكلوتاثايون والمالونداياالديهايد وهرمون التستوستيرون تم استخدام تحليل التباين الأحادي ، ولأختبار معنوية الفروقات بين المجاميع فقد استخدم اختبار دنكن متعددة الحدود عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) لتحليل البيانات (18) وباستخدام البرنامج الإحصائي Sigma Stat 3.1 (Jandel scientific software V3.1).

النتائج

بين الجدول (1) حدوث الانخفاض المعنوي ($P <0.05$) في الوزن الحي للمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين في الأسبوع الرابع والسادس من المعاملة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ، وأظهرت المعاملة بفيتامين C مع بيروكسيد الهيدروجين ارتفاعاً معنوياً ($P <0.05$) في الوزن الحي منذ الأسبوع الرابع واستمر بالارتفاع حتى الأسبوع السادس من المعاملة بالمقارنة مع المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده والرجوع الى قيم السيطرة ، وسببت المعاملة بسيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين إلى ارتفاع معنوي ($P <0.05$) في الوزن الحي في الأسبوع السادس من المعاملة عند المقارنة مع المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده والرجوع الى قيم السيطرة.

الجدول (1) تأثير فيتامين C وسيلينات الصوديوم في الوزن الحي (كغم) للديكة المعرضة للكرب التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين طيلة مدة التجربة

مدة المعاملة / المعاملات	الوزن الابتدائي	اسبوعين	4 أسابيع	6 أسابيع
السيطرة العليقة القياسية+ماء اعتيادي	0.025±1.775 a	0.034±1.930 a	0.042±1.958 a	0.052±1.960 a
بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب + العليقة القياسية	0.062±1.815 a	0.064±1.715 a	0.086±1.655 b	0.048±1.755 b
فيتامين C (450 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب	0.08±1.940 a	0.080±1.910 a	0.082±2.010 a	0.087±2.060 a
سيلينات الصوديوم (0.5 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين (0.5%)مع ماء الشرب	0.055±1.955 a	0.063±1.880 a	0.06±1.860 ab	0.056±1.965 a

*** القيم تعبر عن المعدل ± الخطأ القياسي (n=10) .**

*** الحروف الانكليزية الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية بين المجاميع $P < 0.05$**

سجلت نتائج الدراسة المبينه في الجدول (2) حدوث انخفاض معنوي ($P <0.05$) في تركيز النطف للمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده طيلة مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة ووقت الصفر, وسبب إعطاء مضادات الأكسدة (فيتامين C وسيلينات الصوديوم) للديكة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين ارتفاع معنوي ($P <0.05$) في تركيز النطف طيلة مدة التجربة بالمقارنة مع المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين والرجوع إلى قيم السيطرة ، بإستثناء الارتفاع المعنوي لمجموعة فيتامين C مع بيروكسيد الهيدروجين في الأسبوع السادس عند المقارنة مع مجموعة السيطرة، وحدوث الارتفاع المعنوي ($P <0.05$) في الأسبوع السادس لمجموعة فيتامين C مع بيروكسيد الهيدروجين عن وقت الصفر .ولم يكن هنالك أي اختلافات معنوية لمدة المعاملة ضمن المجموعة الواحدة لمجاميع المعاملة بمضادات الاكسدة طيلة مدة التجربة (الاسبوع الثاني والرابع والسادس).

الجدول(2) تأثير فيتامين C وسيلينات الصوديوم في تركيز النطف (بليون / مل) للديكة المعرضة للكرب التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين

مدة المعاملة / المعاملات	وقت الصفر	أسبوعين	4 أسابيع	6 أسابيع
السيطرة العليقة القياسية+ماء اعتيادي	0.078±1.572 a A	0.102±1.719 a A	0.071±1.719 a A	0.092±1.610 b A
بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب + العليقة القياسية	0.10±1.615 a A	0.085±1.360 b B	0.030±1.201 b B	0.059±1.251 c B
فيتامين C (450 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب	0.083±1.617 a B	0.090±1.711 a AB	0.098±1.832 a AB	0.073±1.902 a A
سيلينات الصوديوم (0.5 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب	0.052±1.617 a A	0.053±1.764 a A	0.080±1.762 a A	0.068±1.788 ab A

* القيم تعبر عن المعدل ± الخطأ القياسي(n=10) .
* الحروف الانكليزية الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية بين المجاميع P < 0.05
* الحروف الانكليزية الكبيرة المختلفة ضمن الصف الواحد تشير الى وجود فروق معنوية ضمن المجموعة الواحدة P < 0.05

الجدولان (3 و4) يشيران إلى حدوث الإنخفاض المعنوي (P <0.05) في الحركة الجماعية والفردية لنطف الديكة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين طيلة مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة ووقت الصفر، أدى إعطاء كلٍ من (فيتامين C وسيلينات الصوديوم) مع بيروكسيد الهيدروجين إلى حدوث ارتفاع معنوي في الحركة الجماعية والفردية طيلة مدة التجربة بالمقارنة مع المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده والرجوع إلى قيم السيطرة، ولم تختلف معنوياً (P > 0.05)عن وقت الصفر لتلك المعاملات.

الجدول (3) تأثير فيتامين C وسيلينات الصوديوم في الحركة الجماعية للنطف (%) في الديكة المعرضة للكرب التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين

مدة المعاملة / المعاملات	وقت الصفر	أسبوعين	4 أسابيع	6 أسابيع
السيطرةالعليقة القياسية+ماء اعتيادي	1.52±77.0 a A	1.85±78.0 a A	1.97±76.5 b A	2.16±80.5 a A
بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب + العليقة القياسية	1.33±77.0 a A	2.00±68.0 b B	2.60±68.0 c B	1.94±64.0 b B
فيتامين C (450 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب	2.13±77.0 a A	1.74±80.0 a A	.002.38±8 ab A	1.45±79.0 a A
سيلينات الصوديوم (0.5 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب	2.00±77.5 a A	2.10±80.0 a A	1.82±80.0 ab A	2.33±81.0 a A

* القيم تعبر عن المعدل ± الخطأ القياسي (n=10).
* الحروف الانكليزية الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية بين المجاميع P < 0.05
* الحروف الانكليزية الكبيرة المختلفة ضمن الصف الواحد تشير الى وجود فروق معنوية ضمن المجموعة الواحدةp< 0.05

الجدول(4) تأثير فيتامين C وسيلينات الصوديوم في الحركة الفردية للنطف (%) في الديكة المعرضة للكرب التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين

مدة المعاملة / المعاملات	وقت الصفر	أسبوعين	4 أسابيع	6 أسابيع
السيطرة العليقة القياسية+ماء اعتيادي	1.06±78.5a A	1.79±81.0 a A	2.16±79.5 a A	1.74±79.5 a A
بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%)مع ماء الشرب + العليقة القياسية	1.61±79.5 a A	1.63±71.0 b B	2.40±70.5 b B	1.67±66.5 b B
فيتامين C (450 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب	2.29±79.5 a A	1.70±82.5 a A	2.69±81.5 a A	1.97±81.5 a A
سيلينات الصوديوم (0.5 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب	2.03±79.5 a A	1.85±82.5 a A	1.500±81.5 a A	2.89±83.5 a A

* القيم تعبر عن المعدل ± الخطأ القياسي (n=10).
* الحروف الانكليزية الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية بين المجاميع P < 0.05
* الحروف الانكليزية الكبيرة المختلفة ضمن الصف الواحد تشير الى وجود فروق معنوية ضمن المجموعة الواحدة P < 0.05

يلاحظ من الجدول(5) ارتفاع معنوي ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للنطف الميتة للمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين في الأسبوع الرابع والسادس من المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة ووقت الصفر لتلك المعاملة، سببت المعاملة بفيتامين C مع بيروكسيد الهيدروجين وسيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين انخفاضاً معنوياً في الأسبوع الرابع والسادس عند المقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين لوحده ومجموعة السيطرة وعن الأسبوع الثاني ووقت الصفر خلال مدة المعاملة , في حين لم يظهر أي اختلاف معنوي ($P > 0.05$) بنسبة النطف الميتة في الأسبوع الثاني من المعاملة بفيتامين C مع بيروكسيد الهيدروجين وسيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين بالمقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين لوحده ومجموعة السيطرة وعن وقت الصفر لتلك المعاملة، وكانت لمدة المعاملة تأثير معنوي خلال مدة المعاملة ضمن المجموعة الواحدة إذ ظهر الانخفاض المعنوي بالنسبة المئوية للنطف الميتة في الأسبوع الرابع والسادس من المعاملة بفيتامين C مع بيروكسيد الهيدروجين وسيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين بالمقارنة مع الأسبوع الثاني من المعاملة .

الجدول(5) تأثير فيتامين C وسيلينات الصوديوم في النسبة المئوية للنطف الميتة للديكة المعرضة للكرب التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين

مدة المعاملة / المعاملات	وقت الصفر	أسبوعين	4 أسابيع	6 أسابيع
السيطرة العليقة القياسية+ماء اعتيادي	0.68±21.4 a A	0.74±21.2 a A	0.81± 20.8 b A	0.83±20.7 b A
بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب + العليقة القياسية	0.90±21.3 a B	1.18±23.1 a B	1.27±27.6 a A	1.14±25.8 a A
فيتامين C (450 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب	0.79±20.9 a A	0.56±20.6 a A	1.16±14.7 c B	1.19±16.7 c B
سيلينات الصوديوم (0.5 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب	0.79±21.3 a A	0.86±21.5 a A	1.15±15.2 c B	0.92±17.2 c B

*** القيم تعبر عن المعدل ± الخطأ القياسي (n=10).**

*** الحروف الانكليزية الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية بين المجاميع $P < 0.05$**

*** الحروف الانكليزية الكبيرة المختلفة ضمن الصف الواحد تشير الى وجود فروق معنوية ضمن المجموعة الواحدة $P < 0.05$**

ضمن المجموعة الواحدة إذ ظهر الانخفاض المعنوي بالنسبة المئوية للنطف الميتة في الأسبوع الرابع والسادس من المعاملة بفيتامين C مع بيروكسيد الهيدروجين وسيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين بالمقارنة مع الأسبوع الثاني من المعاملة . يشير الجدول (6) إلى حدوث الارتفاع المعنوي ($P < 0.05$) في النسبة المئوية للنطف المشوهة للمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين طيلة مدة التجربة مقارنة مع مجموعة السيطرة ووقت الصفر،في حين أدت المعاملة بكلٍ من (فيتامينC وسيلينات الصوديوم) مع بيروكسيد الهيدروجين إلى الانخفاض المعنوي ($P < 0.05$) بالنسبة المئوية للنطف المشوهة في الأسبوع الثاني من المعاملة مقارنةً مع مجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده والرجوع إلى قيم السيطرة ولم تختلف معنويا عن وقت الصفر لكل معاملة.

أدت المعاملة بفيتامين C مع بيروكسيد الهيدروجين في الأسبوع السادس الى الانخفاض المعنوي ($P < 0.05$) بنسبة النطف المشوهة بالمقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين ومجموعة السيطرة وعن وقت الصفر لتلك المعاملة، وكانت لمدة المعاملة تأثير ضمن المجموعة الواحدة ، إذ أنّ الانخفاض المعنوي ($P < 0.05$) بنسبة النطف المشوهة في الأسبوع الرابع والسادس من المعاملة بسيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين بالمقارنة مع الأسبوع الثاني من المعاملة, وأنخفضت النسبة المئوية للنطف المشوهة معنوياً ($P < 0.05$) في الأسبوع السادس من المعاملة بفيتامين C مع بيروكسيد الهيدروجين بالمقارنة مع الأسبوع الثاني والرابع من المعاملة.

الجدول (6) تأثير فيتامين C وسيلينات الصوديوم في النسبة المئوية للنطف المشوهة للديكة المعرضة للكرب التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين

مدة المعاملة / المعاملات	وقت الصفر	أسبوعين	4 أسابيع	6 أسابيع
السيطرة العليقة القياسية+ماء اعتيادي	1.04±22.7 a A	1.38±22.8 b A	0.83±22.5 b A	0.54± 22.5 b A
بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب + العليقة القياسية	1.20 ± 23.8 a B	0.86± 27.8 a A	1.35± 27.7 a A	1.60± 29.6 a A
فيتامين C (450 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب	1.23 ± 21.7 a A	0.89± 19.8 b A	0.93± 19.4 c A	0.90± 15.8 c B
سيلينات الصوديوم (0.5 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب	0.84 ± 21.7 a A	0.64± 20.8 b A	1.28± 15.7 d B	1.55± 14.4 c B

*** القيم تعبر عن المعدل ± الخطأ القياسي (n=10).**

*** الحروف الانكليزية الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية بين المجاميع $P < 0.05$**

*** الحروف الانكليزية الكبيرة المختلفة ضمن الصف الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية ضمن المجموعة الواحدة $P < 0.05$**

يوضح الجدول (7) حدوث الانخفاض المعنوي ($P < 0.05$) في مستوى هرمون التستوستيرون في مصل الدم عند إعطاء بيروكسيد الهيدروجين لوحده بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ، وقد سبب إعطاء كل من مضادات الأكسدة (فيتامينC وسيلينات الصوديوم) مع بيروكسيد الهيدروجين إلى زيادة معنوية ($P < 0.05$) في مستوى الهرمون عند المقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين لوحده والرجوع إلى قيم السيطرة . الجدول (7) لم تظهر نتائج التحليل الإحصائي أية فروقات معنوية($P > 0.05$) في الوزن النسبي للخصيتين للمجاميع المعاملة.

الجدول (7) تأثير فيتامين C وسيلينات الصوديوم في مستوى هرمون التستوستيرون نانوغرام/مل والوزن النسبي للخصيتين % بعد 6 أسابيع من المعاملة للديكة المعرضة للكرب التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين

مدة المعاملة / المعاملات	مستوى هرمون التستوستيرون نانوغرام / مل	الوزن النسبي للخصيتين %من وزن الجسم
السيطرة العليقة القياسية + ماء اعتيادي	0.50 ± 2.849 a	0.01 ± 0.35 a
بيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب + العليقة القياسية	0.19 ± 1.139 b	0.03 ± 0.26 a
فيتامين C (450 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب	0.26 ± 2.004 a	0.04 ± 0.40 a
سيلينات الصوديوم (0.5 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب.	0.34 ± 1.980 a	0.04 ± 0.37 a

*** القيم تعبر عن المعدل ± الخطأ القياسي (n= 5).**

*** الحروف الانكليزية الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية بين المجاميع $P < 0.05$**

الجدول (8) تأثير فيتامين C وسيلينات الصوديوم في مستوى المالونداياليديهايد MDA نانومول/غم نسيج رطب ومستوى الكلوتاثايون GSH مايكرومول /غم نسيج رطب للديكة المعرضة للكرب التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين

مدة المعاملة / المعاملات	المالونداياليديهايد نانومول/غم نسيج رطب	الكلوتاثايون مايكرومول /غم نسيج رطب
	الخصية	الخصية
السيطرة العليقة القياسية+ماء اعتيادي	22.6±643 b	0.11±1.867 a
بيروكسيد الهيدروجين (0.5%) مع ماء الشرب + العليقة القياسية	25.2±1199 a	0.09±1.014 b
فيتامينC (450 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5%) مع ماء الشرب	27.6±564 c	0.09±1.970 a
سيلينات الصوديوم (0.5 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين (0.5 %) مع ماء الشرب	16.0±684 b	0.14±1.705 a

*** القيم تعبر عن المعدل ± الخطأ القياسي (n= 5).**

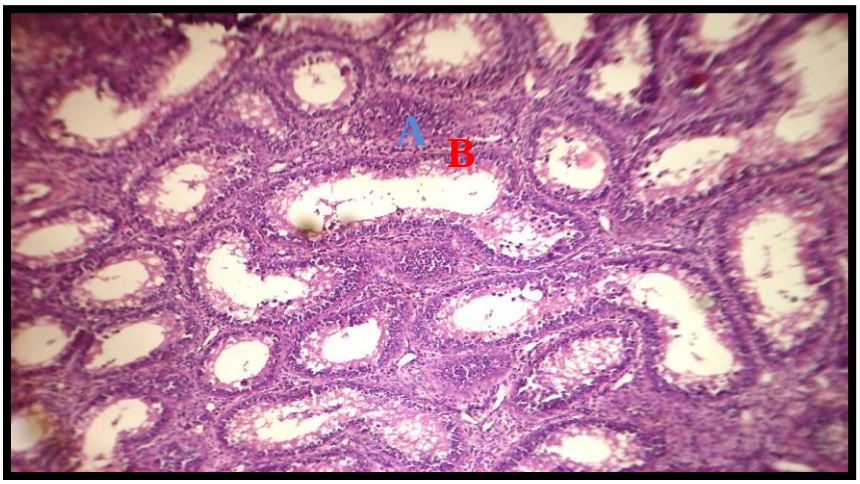
*** الحروف الانكليزية الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية بين المجاميع $P< 0.05$**

يلاحظ من الجدول (8) ارتفاعاً معنوياً ($P < 0.05$) لمستوى المالونداياليديهايد في الخصية لمجموعة بيروكسيد الهيدروجين لوحده بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وقد سبب إعطاء فيتامين C مع بيروكسيد الهيدروجين إنخفاضاً معنوياً ($P < 0.05$) في مستوى المالونداياليديهايد في نسيج الخصية بالمقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين ومجموعة السيطرة .في حين أدى إعطاء سيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين الى حدوث الانخفاض المعنوي ($P < 0.05$) في مستوى المالونداياليديهايد بالمقارنة مع مجموعة بيروكسيد الهيدروجين والرجوع الى قيم السيطرة . يظهر الجدول (8) حدوث الانخفاض المعنوي ($P < 0.05$) في مستوى كلوتاثايون الخصية عند المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. وقد سبب إعطاء كلٍ من فيتأمين C وسيلينات الصوديم مع بيروكسيد الهيدروجين الى زيادة معنوية ($P < 0.05$) لمستوى الكلوتاثايون في الخصية بالمقارنة مع المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده ورجوع القيم الى مجموعة السيطرة .

التغيرات المرضية النسيجية في الخصى Histopathological changes of testis

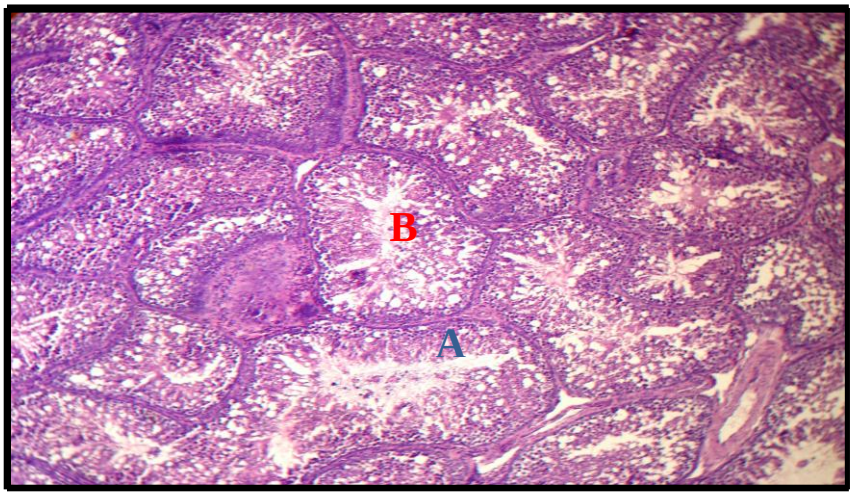
أظهر الفحص النسيجي لخصى الديكة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وجود تغيرات نسيجية في النبيبات المنوية تمثلت بتنكس فجوي Vacuolar Degeneration للخلايا الساندة فضلاً عن تنخر Necrosis البعض منها ، فيما ظهرت الخلايا المولدة للنطف الأولية والثانوية متوقفة عن الانقسام مع خلو تجاويف النبيبات المنوية من النطف فضلاً عن إرتشاح بؤري للخلايا اللمفية في النسيج الخلالي ونخر خلايا ليدك فيما ظهرت نبيبات منوية أخرى تعاني من وجود تغيرات تمثلت بنخر

الخلايا الساندة والخلايا المولدة للنطف الأولية والثانوية مع توسفها Sloughing وسقوطها في تجويف النبيبات المنوية مما أدى إلى تضيق و انسداد تجويف النبيب المنوي الشكل رقم (1).



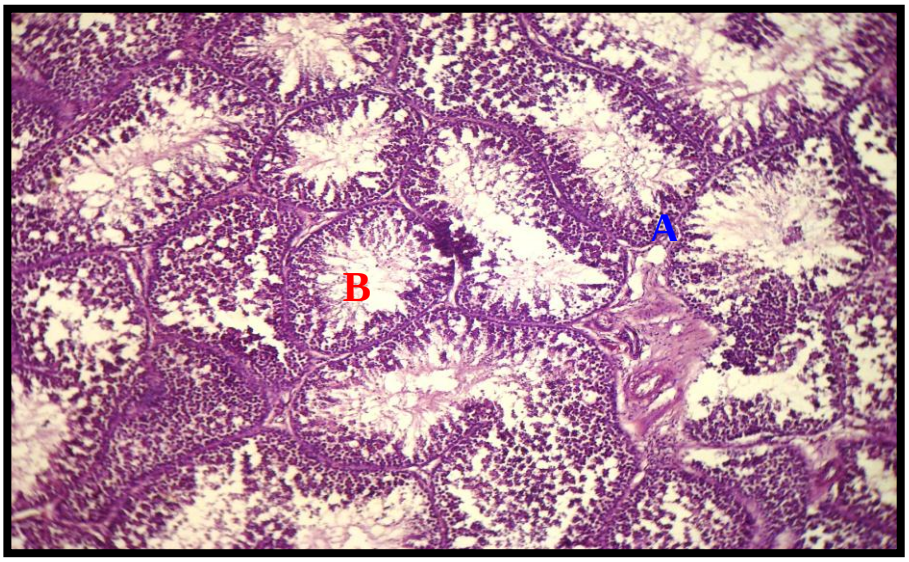
الشكل (1) مقطع نسيجي في خصية ديك من المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين (0.5% مع ماء الشرب) لمدة 6 اسابيع ، توضح توقف للخلايا المولدة للنطف عن الانقسام، فضلا عن خلو تجاويف النبيبات المنوية من النطف (A) فضلاً عن ارتشاح بؤري للخلايا اللمفية في النسيج الخلالي (B) . الصبغة الهيماتوكسيلين والايوسين، قوة التكبير 115x .

بين الفحص النسيجي لخصى الديكة المعاملة بفيتامين C تحسن الصورة النسيجية للعديد من النبيبات المنوية، إذ لوحظ الانقسام الخيطي للخلايا المولدة للنطف وإحتواء تجويف النبيب على ارومات النطف والنطف، فضلاً عن تنكس الخلايا المولدة للنطف الاولية الثانوية لبعض النبيبات المنوية وتوسف الخلايا الساندة وسقوطها في تجويف النبيبات المنوية فضلاً عن احتواء بعض النبيبات المنوية النطف في تجاويفها الشكل (2).



الشكل (2) مقطع نسيجي في خصية ديك من المجموعة المعاملة بفيتامينC (450 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين (0.5% مع ماء الشرب) لمدة 6 أسابيع ، يوضح تحسن الصورة النسيجية للنبيبات المنوية حيث تظهر الخلايا الساندة منتظمة، فضلاً عن وضوح الانقسام المنتظم للخلايا المولدة للنطف والخلايا النطفية (A) وكذلك احتواء تجويف النبيبات المنوية على النطف (B) الصبغة: الهيماتوكسلين والايوسين، قوة التكبير 115x.

أظهر الفحص النسيجي لخصى الديكة المعاملة بسيليات الصوديوم إنتظام شكل النبيبات المنوية، فضلاً عن الإنقسام الخيطي للخلايا المولدة للنطف، وإحتواء تجويف النبيب المنوي على ارومات النطف والنطف، كما لوحظ إحتقان الأوعية الدموية وتثخن في جدرانها في النسيج الخلالي للخصية وظهرت بعض النبيبات المنوية تعاني من التنكس وعدم الانتظام في ترتيبها وإنسداد تجاويفها نتيجة توسف الخلايا المولدة للنطف والنطف الشكل (3).



الشكل(3) مقطع نسيجي لخصية ديك معامل بسيلينات الصوديوم (0.5 ملغم/كغم عليقة) مع بيروكسيد الهيدروجين (0.5% مع ماء الشرب) لمدة 6 اسابيع ، يوضح وجود تغيرات تنكسية ونخرية في الخلايا المولدة للنطف والخلايا الساندة (A)، فيما ظهرت بعض النبيبات المنوية سوية الشكل مع وضوح إنقسام الخلايا النطفية، فضلاً عن إحتواء تجاويفها على النطف (B) الصبغة: الهيماتوكسيلين والايوسين قوة التكبير 115X .

المناقشة

أوضحت نتائج الدراسة الحالية أن المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين أدت إلى حدوث انخفاض معنوي في وزن الديكة ، اتفقت النتيجة الحالية مع دراسة سابقة (19) في دجاج اللحم، إذ يؤدي هرمون التستوستيرون وظيفة احتباس النيتروجين (20) الذي يدخل في تصنيع الأحماض الامينية والبروتينات ومن خلال الدراسة الحالية لوحظ انخفاض في مستوى الهرمون مما أدى الى خفض وزن الجسم، أو يعود السبب إلى قلة استهلاكها للعلف اليومي وذلك لانخفاض شهيتها . أظهرت النتائج الحالية انخفاضاً معنوياً في تركيز النطف في ديكه المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين وهذه النتيجة اتفقت مع (11) إذ لاحظ انخفاض معنوي في تركيز النطف للديكة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين، صاحبه انخفاض معنوي في تركيز هرمون التستوستيرون الذي يؤدي دوراً وظيفياً في عملية تكوين النطف وبذلك فإن انخفاضه أثر بشكل سلبي في إعداد النطف، والذي ظهر أيضا من نتائج الدراسة الحالية أن المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين أدت إلى انخفاض معنوي في مستوى هرمون التستوستيرون في مصل الدم, وقد يعود سبب الانخفاض في مستوى هرمون التستوستيرون في دراستنا الحالية بتأثير العوامل المجهدة التي تؤدي إلى خفض عدد مستقبلات الهرمون اللوتيني في خلايا ليدك مؤديا إلى انخفاض في تصنيع هرمون التستوستيرون مما يسبب الخلل في كمية السائل المنوي ونوعيته من خلال تأثيره على عملية تكوين النطف وبالتالي التقليل من خصوبة الذكور نتيجة تأثير الكرب ألتأكسدي في الخلايا النطفية في المراحل المختلفة لتكوين النطف (21)، هذ امن جهة ومن جهة أخرى يعود سبب انخفاض في اعداد النطف إلى إن زيادة بيروكسيد الهيدروجين يؤدي إلى تحطم الخلايا والأنسجة ومن ضمنها النطف ومن خلال تغيير في طبيعة البروتينات في الأغشية البلازمية للنطف أو بتأثيره المباشر على الخلايا المبطنة للنبيبات المنوية (22)، أشارت الدراسة الحالية إلى حدوث انخفاض معنوي في كل من الحركة الجماعية والفردية للمجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لوحده طيلة مدة التجربة، واتفقت مع الباحث (11)، ويعزى سبب الانخفاض في الحركة الجماعية والفردية إلى زيادة الحاصلة في نسبة النطف الميتة والمشوهة التي أظهرتها الدراسة الحالية، ويمكن تفسير هذه النتيجة الى إن الإنتاج المتزايد لأصناف الأوكسجين الفعالة والتي تعمل على تحطيم البروتينات مسببةً فقدان في فعالية أنزيمات النطف إذ أن الكرب ألتأكسدي يؤدي إلى تغير مسار نمو الخلايا ويحث على تحطم الجينات الخلوية وإطلاق أنزيمات مسئولة عن تحلل البروتين (23)، كما تعمل أصناف الأوكسجين الفعالة على تحطيم الخلايا المبطنة للنبيبات المنوية والمتمثلة بالخلايا المولدة للنطف، الخلايا الساندة (خلايا سرتولي) والنطف مؤديةً إلى حدوث تنكسات وتغيرات نسجية في بطانة النبيبات المنوية التي تعيق عملية تكوين النطف ونضجها وبالتالي تزداد نسبة النطف الميتة والتشوهات النطفية (22) وهذا ما اكدته المقاطع النسجيه في الدراسه الحاليه التي لوحظت على خصى الديكة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين. بينت الدراسة الحالية أن المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين ادت ارتفاع معنوي بمستوى المالونداليديهايد MDA وانخفاض معنوي بمستوى الكلوتاثايون GSH في نسيج الخصية والذي قد يعود إلى حالات الكرب ألتأكسدي الذي يحدث بسب انخفاض فعالية تحويله السكر الخماسي Pentose shunt، وعدم تكوين العامل المختزل NADPH الضروري لتكوين الشكل المختزل للكلوتاثايون GSH (24).

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن المعاملة بفيتامين C مع بيروكسيد الهيدروجين أدت إلى حدوث ارتفاع معنوي في وزن الجسم في الأسبوع الرابع من المعاملة، ويمكن تفسير هذا الارتفاع في أوزان الديكة على أن فيتامين C يساعد على إضافة مجموعة الهيدروكسيل للحامض الأميني البرولين لتكوين هيدروكسي برولين Hydroxy Proline الذي يشارك في تكوين الكولاجين ، ويعمل على الزيادة من تمثيل الفينيل النين phenyl alanine والتايروسين اللذان يعتبران

المادتين الأوليتين لتصنيع هرمون الدرقية Thyroid hormone الذي يؤدي دوراً مهماً في إدامة إفراز هرمون وزيادة معدل الأيض الأساسي وبذلك يعمل فيتامين C على تحسين قابلية الحيوانات على تناول الغذاء; (4).كما أشارت الدراسة الحالية إلى الارتفاع المعنوي في وزن الجسم عند المعاملة بسيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين في الأسبوع السادس من المعاملة واتفقت مع جاسم (25) في الجرذان المعرضة للكرب التأكسدي المحدث ببيروكسيد الهيدروجين 1% مع ماء الشرب والمعاملة بسيلينات الصوديوم.

بينت الدراسة الحالية أن المعاملة بكلٍ من (فيتامين C وسيلينات الصوديوم مع بيروكسيد الهيدروجين) سببت ارتفاعاً معنوياً في تركيز النطف طوال مدة المعاملة، وقد يعزى سبب التحسن في تركيز النطف إلى الدور الوقائي لفيتامين C في العليقة بوصفه عاملاً مثبطاً لبيروكسدة الدهن (19). وقد يعزى سبب الارتفاع في تركيز النطف الى دخول السيلينيوم في تركيب أنزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز الذي يعد من مضادات الأكسدة المهمة والمسئولة عن إزالة سمية بيروكسيد الهيدروجين في الجسم، كما يتآزر هذا الأنزيم مع فيتامين E بصورة طبيعية ليخفض بيروكسيد الهيدروجين، وبذلك يعمل على حماية الخلايا والأنسجة من الجذور الحرة المتكونة (26) ، مما يشير إلى دوره في السيطرة على بيروكسدة الدهن لأنه جزء من مكونات الأنزيمات السيلينية Selenoenzymes التي لها علاقة بالنظام المضاد للأكسدة ، وله دور في عملية نقل السيلينيوم وحماية الأنسجة ضد الجذور الحرة (27)، فضلاً عن أن نتائج الدراسة الحالية بينت أن المعاملة بمضادات الأكسدة (فيتامين C وسيلينات الصوديوم) سببت زيادة معنوية في تركيز هرمون التستوستيرون وذلك أدى إلى حدوث زيادة في أعداد النطف، إن نتائج المعاملة بفيتامين C اتفقت مع كلٍ من (28) إذ لاحظا إن إضافة فيتامين C بتركيز 500 جزءاً بالمليون (ppm) سبب تحسناً معنوياً في صفات السائل المنوي تحت ظروف ارتفاع كل من درجة الحرارة والرطوبة، ويعزى سبب التحسن في تركيز النطف إلى الدور الوقائي لفيتامين C في العليقة بوصفه عاملاً مثبطاً لبيروكسدة الدهن (19).

وأظهرت المعاملة بفيتامين C وجود تحسن معنوي في الحركة الجماعية والفردية طول مدة التجربة، واتفقت هذه النتيجة مع توصل الية الباحثان (28 و11) في دراستهم على الديكه و (29) في داسه على ذكور البط . يعد فيتامين C من مضادات الأكسدة الذائبة في الماء ويوجد بنسبة عالية في نطف الطيور والبلازما المنوية (30) ويؤدي دوراً في التقليل من أصناف الأوكسجين الفعالة ومن بيروكسدة الدهن في نطف الطيور، وبذلك يعمل على زيادة حركة النطف وحيويتها ، وإنّ نقص فيتامين C يؤدي إلى تلازن النطف إذ تلتصق مع بعضها البعض فيؤدي الى تثبيط حركتها.

أشارت الدراسة الحالية أن المعاملة بسيلينات الصوديوم أدت إلى حدوث ارتفاع معنوي في كل من الحركة الجماعية والفردية للنطف ، وإنّ من الأسباب المحتملة لهذا الإرتفاع في كل من الحركة الجماعية والفردية للنطف هي الإنخفاض في نسبة النطف الميتة والمشوهة وهذا ما ظهر في الدراسة الحالية ، إذ تعدُ أملاح السيلنيوم من مضادات الأكسدة المعروفة والتي تؤدي دوراً مهماً في حماية الخلايا والأنسجة ضد الكرب التأكسدي لكونة يدخل في تكوين أنزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز الذي يعد من مضادات الأكسدة القوية والمهمة في الجسم(23) .

أما المعاملة بفيتامين C، سيلينات الصوديوم كلا على حده مع بيروكسيد الهيدروجين في الدراسة الحالية فقد أحدثت إنخفاضاً معنوياً في نسبة النطف الميتة والمشوهة منذ الأسبوع الرابع من المعاملة واستمر الانخفاض حتى نهاية التجربة, أما في الأسبوع الثاني من المعاملة لم يظهر أي تغير معنوي في نسبة النطف الميتة وربما يعزى ذلك إلى قصر المدة الزمنية اللازمة للوقاية، وتتفق هذه النتيجة مع (28و25و22و11)، إذ أن لفيتامين C دوراً مضاداً للأكسدة يعمل على تثبيط الكرب التأكسدي في خلايا الجسم المختلفة عن طريق كبح الجذور الحرة وتثبيط بيروكسدة الدهون وبالتالي يعمل على تحسين بناء الانسجة (23) من خلال تأثيره في صنع كولاجين الأنسجة الرابطة الموجودة في الجهاز التناسلي وصنع الأنزيمات التي تعمل على حماية النطف من تحطم الـDNA والتقليل من التشوهات النطفية (31) وبذلك يحمي النطف ويمنع تحطم الجزيئات الحيوية (البروتينات، الدهون والحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA ويحمي أغشية النطف ويقلل من تكوين بيروكسيدات الدهون (32).

وبينت نتائج الدراسة الحالية أن المعاملات بمضادات الأكسدة أدت إلى زيادة معنوية في مستوى هرمون التيستيستيرون، يشارك فيتامين C في تصنيع الهرمونات الستيرويدية وبضمنها الهرمونات الجنسية وبذلك يكون له تأثير مفيد في الجهاز التناسلي تحت ظروف الكرب وقد يعود تأثير فيتامين C من خلال دوره المضاد لإفراز هرمون الكورتيكوستيرون من قشرة الغدة الكظرية بتثبيطه أنزيمي hydroxylase β-11 و hydroxylase -21 المهيمنان في تصنيع الستيرويدات القشرية ذات التأثيرات المضادة للهرمونات الجنسية (28)، تمتلك الخصية أنزيمات تحتوي على السيلنيوم Selenoenzyme ومنها أنزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز وسيلينوبروتين P إذ يرتبط السيلنيوم مع الحامض الاميني السستين Cysteine بشكل Selenocysteine (27) وتؤدي هذه الأنزيمات دورا في نقل السيلنيوم وحماية الخلايا والأنسجة ضد بيروكسدة الدهن من خلال إزالة بيروكسيد الهيدروجين وبالتالي تقليل تكوين جذر الهيدروكسيل، وبذلك يمنع بدء بيروكسدة الدهن (33) فضلاً عن علاقة هذه الأنزيمات بإنتاج هرمون التستوستيرون من خلايا ليدك في الخصية (27).

الشكر والتقدير

نتقدم بالشكر والتقدير إلى عمادة كلية الطب البيطري / جامعة الموصل لما أبدته من مساعدات وتسهيلات من أجل انجاز البحث .

المصادر

1- ابراهيم اسماعيل خليل (1987). تغذية الدواجن. مطبعة جامعة الموصل.

2- Weise HM Schlachter HP and kormann AW (1990). The relevance of ascorbic acid for bone metabolism. In : ascorbic acid in domestic animals Proc. 2nd Symposium , Kartause Ittingen , Switzerland.
3- Arrigoni O and De Tullio MC (2002). Ascorbic acid : much more than just an antioxidant. Biochem Biophys Acta : 15(6): 1-9.
4- Feri B (2004). Reactive oxygen species and antioxidant vitamins. Circulation 101(10): 2264-227
5- Savini I D'Angelo I Annicchiarico – Petruzzelli M Bellincamp L Melino G and Avigliano L (1998). Ascorbic acid recycling in N-myc amplified human neuroblastoma cells. Anticancer Res 18(2A): 81
6- Tsukaguchi H Tokui TV Mackenzie B Berger UV Chen XZ and Wang Y (1999). A family of mammalian Na+ dependent L-ascorbic acid transporters Nature 399: 70-75.
7- Whitechead CC and Keller T (2003). An update on ascorbic acid in Poultry World's Poult Sci J 59: 161-184.
8- Combs GF (1992). The role of ascorbic acid in poultry nutrition. Takeda USA INC Organeburg New York.
9- McDanial CD Hood JE and Parker HM (2004). An attempt at alleviating heat stress infertility in male broiler breeder chickens with dietary ascorbic acid Inter J Poult Sci 3(9): 593-602.
10- Yongping B and Gray W (2000). Selenium dependent glutathione peroxidase A high light of the role of phospholipids hydroperoxide, glutathione peroxidase in protection against oxidation damage. Prod In Nature Sci 10: 321-330.
11- طه احمد طايس (2008). دور فيتاميني A و C وبذور الحلبة في التقليل من أثر الإجهاد التأكسدي في الأداء الفسلجي والتناسلي لإباء فروج اللحم. أطروحة دكتوراه- كلية الزراعة والغابات- جامعة الموصل.
12- القطان منتهى محمود داؤد (2006). تأثير إستخدام بعض مضادات الأكسدة في الأداء الإنتاجي وبعض الصفات الفسلجية للدجاج البياض. أطروحة دكتوراه-كلية الزراعة والغابات- جامعة الموصل.
13- Paton ND Cantor AH Pescatone AJ Ford MJ and Smith CA (2002). The effect of dietary selenium source and level on the uptake of selenium by developing chick embryo. Poult Sci 81: 1548-1554.
14- Burrows WH and Quinn JP (1937). The collection of spermatozoa from the collection of serpmatozoa from the domestic fowl and turkey. Poult Sci 16: 19-240
15-السعدي حسين عبد الكريم. (1989). التناسل الإصطناعي. الجزء الاول. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة بغداد.
16- Gilbert HS Stamp DD Roth EF (1984).A method to correct for errors caused generation of interfering compounds during erythrocytes lipid peroxidation Analyt Biochem 137: 282-28
17- Moron MS Depierre JW Mennervik B (1979). Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat lung and liver. Biochem Biophys Acta 582(1): 67-78.
18- جوده احمد محفوظ(2008ا) لتحليل الإحصائي المتقدم باستخدام SPSS عمان الأردن الطبعة الأولى دار وائل للنشر.
19- Hassan SM Al-Kennany ER and Al-Hafez HAK (2000). Hydrogen peroxide – induced atherosclerosis in chicken : effect of vitamin C. Iraqi J Vet Sci 13: 249-269.
20- الحسني ضياء حسن. (2000) فسلجة الطيور الداجنة. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة بغداد، كلية الزراعة.
21- Ishihura M Itoh M Miyamoto K Suna S Takenchi Y Takenaka I and Jitsunari F (2000). Spermatogenic disturbance induced by di (2-ethylhexyl) phthalate is significantly prevented by treatment with antioxidant vitamins in the rat. It J Androl 23: 85-94
22- Hipler UC Gornig M Hipler B Romer W and Schreiber G (2000). Stimulation and scavestrogen-induced inhibition of reactive oxygen species generated by rat sertoli cells. Arch Androl 44: 147-154.
23 - Ferrari CKB (2000). Free radical, lipid peroxidation and antioxidant in apoptosis: Implication in cancer, cardiovascular, neurological diseases. Biol Bratislava 55(6): 581-590.

24 - Martins RN Stokes GB and Masters CL (1985). Regulation of multimolecular forms of rat liver glucose-6-phosphate dehydrogenease by insulin and dietary restriction. Biochem Biophys Res Coummun. 127: 136-142.

25- جاسم هبة محمد. (2003). تأثير بعض العناصر النادرة في وظيفة الخصية في الجرذان المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل.

26 - Berger LL (2003). Selenium and vitamin E antioxidants for animals. Salt Trace Miner 35(2): 1-3.

27 - Nishimura K Matsumiya K Tsujimura A Koga M Kitamura M and Okuyama A (2001). Association of Selenoprotein P with testosterone production in cultured leydig cells. Arch Androl 47(1): 67-76.

28- الدراجي، حازم جبار. (1998) تأثير إضافة حامض الاسكوربيك إلى العليقة في الصفات الفسلجية والإنتاجية لقطعان أمهات فروج اللحم فاويرو المرباة خلال اشهر الصيف. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

29 - Lin CC Huang CC Chen MC Huang AJF and Hung WC (2002). Arsenic toxicity on duck spermatozoa and the ameliorating effect of L-ascorbic acid. J Anim Sci 15 (1) : 19-25.

30 - Surai PF Blesbois E Grasseau I Chalah T Brillard JP Wishart GJ Cerolini S and Sparks NHC (1998). Fatty acid composition, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity and total antioxidant activity of avian semen. Comp. Biochem and Physio Part B 120(3): 527-533.

31- Ciereszko A and Dabrowski K (2000). Effect of ascorbic acid supplement in vitro on rainbow trout sperm viability. Aquaculture Int 8(1) : 1-8.

32- Hsu PC Liu MY Hsu CC Chen LY and Guo YL (1998). Effect of vitamin E and / or vitamin C on reactive oxygen species related lead toxicity in the rat sperm. Toxicology 128: 169-179.

33 - Halliwell B and Gutteridge JMC (1984). Lipid peroxidation oxygen radicals cell damage and antioxidant therapy. Lancet 11(1): 1396-1397.