ผลของระดับพลังงาน วิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมในอาหารแม่ไก่ต่อสมรรถนะการผลิต ระยะเวลาการมีชีวิตรอดของอสุจิ และการต้านอนุมูลอิสระในของเหลวจากต่อมสร้างเปลือกไข่

Effects of dietary energy, vitamin C, vitamin E and selenium in maternal diets on productive performance, fertile period length of sperm and antioxidant activity in uterine fluid

พชรพล พะศรี[1], สุภัตรา โอกระโทก[1], เมริษา ศิริโสภาพงษ์[1], อาภรณ์ คิมเข้ม[1], วิทธวัช โมพี[1], อมรรัตน์ โมพี[1], ประพจน์ มะลิวัลย์[1], Nadine Gerard[2], Pascal Mermillod[2] และ สุทิศา เข็มผะกา[1*]

Podcharapon Pasri[1], Supattra Okrathoke[1], Merisa Sirisopapong[1], Arporn Khimkem, Wittawat Molee[1], Amonrat Molee[1], Nadine Gerard[2], Pascal Mermillod[2] and Sutisa Khempaka[1*]

บทคัดย่อ: การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระดับพลังงาน วิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมในอาหารแม่ไก่ต่อสมรรถนะการผลิต ระยะเวลาการมีชีวิตรอดของอสุจิ และการต้านอนุมูลอิสระในของเหลวจากต่อมสร้างเปลือกไข่ ใช้ไก่ไข่สายพันธุ์อีซ่า บราวน์ จำนวน 128 ตัว อายุ 33 สัปดาห์ โดยสุ่มแบ่งเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 32 ตัว ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ไก่ไข่ทุกตัวได้รับอาหารวันละ 109 กรัม และให้น้ำอย่างเต็มที่ภายใต้แสง 17 ชั่วโมง/วัน อาหารทดลองแบ่งออกเป็น 4กลุ่ม 1) ระดับพลังงานต่ำ (2,650 kcal ME/kg) 2) ระดับพลังงานต่ำร่วมกับการเสริมวิตามินซี 200 mg/kg วิตามินอี 100 mg/kg และซีลีเนียม 0.3 mg/kg 3) ระดับพลังงานปกติ (2,900 kcal ME/kg) และ 4) ระดับพลังงานปกติร่วมกับการเสริมวิตามินซี 200 mg/kg วิตามินอี 100 mg/kg และซีลีเนียม 0.3 mg/kg ผลการทดลองพบว่าพลังงานในอาหารที่ระดับปกติสามารถเพิ่มผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ และการรักษาความสมบูรณ์ของรังไข่ ($P<0.05$) นอกจากนี้การเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมในอาหารพลังงานทั้ง 2 ระดับ สามารถเพิ่มกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์กลูต้าไธโอนเปอร์ออกซิเดสในของเหลวจากต่อมสร้างเปลือกไข่ แต่อย่างไรก็ตาม ระดับพลังงาน วิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมในการทดลองนี้ไม่มีผลต่อระยะเวลาการมีชีวิตรอดของอสุจิ และอัตราการผสมติด การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าพลังงาน วิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมมีผลในการเปลี่ยนแปลงสมรรถนะการผลิต และการต้านอนุมูลอิสระในไก่ไข่ได้

คำสำคัญ: พลังงาน, สารต้านอนุมูลอิสระ, ของเหลวจากต่อมสร้างเปลือกไข่, ระยะเวลาการมีชีวิตรอดของอสุจิ

ABSTRACT: This study aimed to examine the effects of dietary metabolizable energy (ME) level, vitamin C, vitamin E and selenium (Se) on productive performance, fertile period length of sperm and antioxidant activity. A total of 128 ISA Brown female laying hens aged 33 weeks were randomly allotted to 4 groups of 32 birds each in a Completely Randomized Design (CRD), all birds were fed diets 109 g/day and free access to water under a 17 hours light. The experimental diets consisted of 4 groups: 1) low energy (2,650 ME kcal/kg) diet 2) low energy diet supplemented with 200 mg/kg of vitamin C, 100 mg/kg of vitamin E and 0.3 mg/kg of Se 3) normal energy diet (2,900 ME kcal/kg)

[1] สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 30000
School of Animal Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology 30000

[2] Physiologie de la Reproduction et des Comportements, UMR 085, INRA, CNRS, Université de Tours, IFCE, 37380 Nouzilly, France

* Corresponding author: khampaka@sut.ac.th

and 4) normal energy diet supplemented with 200 mg/kg of vitamin C, 100 mg/kg of vitamin E and 0.3 mg/kg of Se. The results showed that the normal energy diet can improve egg production, egg weight and maintain ovarian integrity ($P<0.05$). In addition, the supplementation of vitamin C, vitamin E and Se in both energy levels can increase glutathione peroxidase activity in uterine fluid. However, dietary energy, vitamin C, vitamin E and Se in this study had no effects on fertile period length of sperm and fertility. In conclusion, it is indicated that dietary energy, vitamin C, vitamin E and Se can alter productive performance and antioxidant activity of laying hens.
Keywords: dietary energy, antioxidant, uterine fluid, fertile period length of sperm

บทนำ

อัตราการผสมติดในฝูงไก่พ่อแม่พันธุ์เป็นปัจจัยสำคัญที่จะได้มาซึ่งจำนวนลูกไก่ที่อายุ 1 วัน ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการผสมติดมีสาเหตุมาทั้งจากฝูงไก่พ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ เช่น อายุ ความสมบูรณ์พันธุ์ ปัจจัยทางด้านอาหาร พันธุกรรม น้ำหนักตัว รูปแบบการผสมพันธุ์ สุขภาพ และการจัดการสภาพแวดล้อมในโรงเรือนเป็นต้น นอกเหนือจากการจัดการไก่พ่อพันธุ์เพื่อเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อแล้ว การจัดการไก่แม่พันธุ์เพื่อเพิ่มอัตราการผสมติดก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องคำนึงถึง (Akhlaghi et al., 2014) จากการรวบรวมเอกสารพบว่า ระยะเวลาการมีชีวิตรอดของอสุจิในท่อนำไข่ (oviduct) ที่นานขึ้นก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญที่มีผลต่อการผสมติดเช่นกัน (Breque et al., 2006; Suria, 2005) ระยะเวลาการมีชีวิตรอดของอสุจิ (sperm fertile period length) เกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อมทางชีวเคมีต่างๆ ภายในของเหลวที่หลั่งจากต่อมสร้างเปลือกไข่ (uterine fluid) และท่อนำไข่ เช่น วิตามินซี วิตามินอี กลูต้าไธโอน (glutathione) เอนไซม์กลูต้าไธโอน เปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase, GPx) และซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase, SOD) โดยมีความผันแปรไปตามสภาวะร่างกายของสัตว์ และสารอาหารที่ได้รับ แต่ในปัจจุบันการเลี้ยงไก่พ่อแม่พันธุ์ในระบบเข้มข้น (intensive system) สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ได้ง่ายขึ้น ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระเกินกว่าที่กลไกของร่างกายจะสามารถกำจัดออกได้ สร้างความเสียหายต่ออสุจิ ทำให้อสุจิมีชีวิตรอดในท่อนำไข่ลดลง และส่งผลกระทบต่ออัตราการผสมติด (Breque et al., 2006) นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าระดับพลังงานที่สัตว์ได้รับก็มีผลต่อการผสมติด และอัตราการฟักออกเช่นกัน (Sunder et al., 2007) ดังนั้นการศึกษาบทบาทของพลังงานร่วมกับการเสริมวิตามินอี วิตามินซี และซีลีเนียม ในอาหารแม่ไก่ เพื่อที่จะนำความรู้ดังกล่าวไปประยุกต์ใช้ในการทำสูตรอาหารให้มีความเหมาะสมเพื่อเพิ่มอัตราการผสมติด น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยแก้ปัญหาได้

วิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียม เป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่สามารถทำงานร่วมกันได้อย่างมีประสิทธิภาพในกลไกการกำจัดอนุมูลอิสระ มีบทบาทสำคัญต่อการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกัน สมรรถนะการผลิต และระบบสืบพันธุ์ของสัตว์ (Cufadar et al., 2010a; Surai, 2005) วิตามินซีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายได้ในน้ำ วิตามินอีมีศักยภาพสูงในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ส่วนซีลีเนียมเป็นองค์ประกอบหลักของเอนไซม์กลูต้าไธโอนเปอร์ออกซิเดส (Surai and Fisinin, 2014) ดังนั้นการเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมในอาหารน่าจะสามารถเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของของเหลวที่หลั่งจากต่อมสร้างเปลือกไข่ได้ดีขึ้น โดย Ahammade et al. (2013a) รายงานว่า ความสามารถในการมีการชีวิตรอดของอสุจิและอัตราการผสมติดขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางชีวเคมีในของเหลวที่หลั่งจากต่อมสร้างเปลือกไข่ โดยพบว่าวิตามินอี วิตามินซี กลูต้าไธโอน เปอร์ออกซิเดส และซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตสในเนื้อเยื่อช่องคลอด (vagina) ส่วนต่อระหว่างช่องคลอดและต่อมสร้างเปลือกไข่ (utero-vaginal junction) และต่อมสร้างเปลือกไข่ (uterus) มีการสะสมในปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับระดับสารอาหารที่ได้รับ ช่วงอายุแม่ไก่ และเนื้อเยื่อในแต่ละส่วน (Breque et al., 2006) การเสริมวิตามินอีร่วมกับซีลีเนียมในอาหารไก่ไข่ พบว่าสามารถเพิ่มสมรรถนะ

การผลิต ลดการเกิดปฏิกิริยาลิพิด เปอร์ออกซิเดชัน และเพิ่มการทำงานของเอนไซม์กลูต้าไธโอน เปอร์ออกซิเดส (Ebeid, 2012; Skrivan et al., 2013; Wen et al., 2013) นอกจากนี้การเสริมวิตามินซีร่วมกับวิตามินอีในอาหารนกกระทาที่เลี้ยงภายใต้สภาวะเครียดจากความร้อน พบว่าสามารถเพิ่มน้ำหนักไข่ อัตราการผสมติด และอัตราการฟักได้ อีกทั้งระดับพลังงานในอาหารนอกจากจะมีผลโดยตรงต่อผลผลิตและน้ำหนักไข่แล้ว (Enting et al., 2007; Cufadar et al., 2010b) อาจมีบทบาทต่อกระบวนการเมแทบอ ลิซึมขั้นพื้นฐานที่ส่งผลต่อการผสมติดเช่นเดียวกัน เนื่องจากการเคลื่อนที่ของอสุจิภายในท่อนำไข่ต้องใช้พลังงานในรูปของ ATP (Pasupuleti, 2007) ซึ่งส่วนใหญ่ได้จากการสลายน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอื่นๆ (Ahammad et al., 2013a)

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระดับพลังงานร่วมกับการเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมในอาหารไก่ไข่ ต่อสมรรถนะการผลิต ระยะเวลาการมีชีวิตรอดของอสุจิ และการต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลอง

ไก่ไข่สายพันธุ์อีซ่า บราวน์ที่อายุ 30 สัปดาห์ จำนวน 128 ตัว เป็นตัวแทนแม่ไก่พันธุ์ น้ำหนักเฉลี่ย 1,700 ± 20 กรัม ทำการแบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 32 ซ้ำ เลี้ยงบนกรงเดี่ยว ใช้ระยะเวลาในการทดลอง 4 สัปดาห์ โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ไก่ทุกตัวได้รับอาหารในปริมาณที่เท่ากันตามมาตรฐานสายพันธุ์ (109 กรัม/วัน) และให้น้ำอย่างเต็มที่ตลอดการทดลองเลี้ยงในโรงเรือนระบบปิดโดยให้แสงวันละ 17 ชั่วโมงต่อเนื่องกัน ก่อนเริ่มการทดลองทำการปรับสัตว์โดยจัดไก่เข้าตามกลุ่มทดลองต่างๆ เช็คเวลาการออกไข่ และผลผลิตไข่ของไก่แต่ละตัว จากนั้นให้กินอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ จึงจะเริ่มการทดลอง แม่ไก่จะได้รับการผสมเทียมวันละ 1 ครั้งต่อเนื่องกันในช่วง 2 วันแรกของการทดลอง (อายุ 33 สัปดาห์) โดยใช้น้ำเชื้อจากไก่พ่อพันธุ์จำนวน 60 ตัว ที่มีการตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อ และนำน้ำเชื้อทั้งหมดที่ได้มารวมกันเพื่อเป็นแหล่งน้ำเชื้อคุณภาพดี โดยนำน้ำเชื้อสดผสมกับสารละลายเจือจางน้ำเชื้อ (PBSE) ในอัตราส่วน 1:1, V/V ทำการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อที่เจือจางแล้วปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร/ตัว/วัน เป็นเวลา 2 วันติดต่อกัน เริ่มบันทึกข้อมูลหลังจากที่มีการผสมเทียมครั้งที่ 2 อย่างต่อเนื่องจนครบ 21 วัน

อาหารทดลอง

เป็นการทดสอบระดับพลังงานร่วมกับการเสริมวิตามินซี วิตามินอีและซีลีเนียมในอาหารไก่ไข่เพศเมีย พลังงานในอาหารแบ่งออกเป็น 2 ระดับคือ พลังงานระดับปกติ 2,900 kcal ME/kg ตามคำแนะนำของมาตรฐานสายพันธุ์อีซ่า บราวน์ และพลังงานระดับต่ำ 2,650 kcal ME/kg (**Table 1**) ร่วมกับการเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมที่ระดับความต้องการขั้นพื้นฐานของไก่ไข่ โดยใช้วิตามินซี (ascorbic acid) ที่ระดับ 200 mg/kg) วิตามินอีที่ใช้อยู่ในรูปดีแอล-อัลฟาโทโคฟีรอล (DL-alpha tocopherol) ที่ระดับ 100 mg/kg (Aviagen Inc, 2013a) และซีลีเนียมเสริมในรูปของซีลีเนียมยีสต์ (selenium yeast) ที่ระดับ 0.30 mg/kg (NRC, 1994) โดยไก่ได้รับอาหารวันละ 109 กรัม ที่ระดับพลังงานต่ำและระดับพลังงานปกติ ไก่จะได้รับพลังงานวันละ 281 และ 316 kcal ME ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามสมการของ Scott et al. (1982) และ Lesson and Summers (2005) โดยอาหารระดับพลังงานต่ำดังกล่าวคำนวณอยู่บนพื้นฐานที่คาดว่าจะไม่ส่งผลกระทบต่อการให้ผลผลิตไข่ ส่วนโภชนะชนิดอื่นๆ ในสูตรอาหารทั้งหมดคำนวณตามคำแนะนำของ NRC (1994) อาหารทดลองแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม 1) ระดับพลังงานต่ำ 2,650 kcal ME/kg 2) ระดับพลังงานต่ำ 2,650 kcal ME/kg ร่วมกับการเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียม 3) ระดับพลังงานปกติ 2,900 kcal ME/kg และ 4) ระดับพลังงานปกติ 2,900 kcal ME/kg ร่วมกับการเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียม

Table 1 Composition of the basal diets

	Low-ME 2,650 kcal ME/kg	Normal-ME 2,900 kcal ME/kg
Corn	55.20	55.20
Meat meal, 60%	4.29	4.29
Soybean meal, 48%	24.30	24.30
Soybean oil	-	4.45
Cassava pulp	5.53	1.08
Salt	0.36	0.36
DL-methionine	0.15	0.15
Calcium carbonate	9.17	9.17
Mono-calcium phosphate	0.50	0.50
Premix[1]	0.50	0.50
Calculated compositions (%)		
ME (kcal/kg)	2,650	2,900
Calcium	4.00	4.00
Available Phosphorus	0.39	0.39
Digestible Lysine	0.85	0.84
Methionine	0.40	0.40
Methionine + Cystine	0.61	0.61
Threonine	0.56	0.56
Analyzed compositions (%)		
Crude protein	17.75	17.71
Crude fiber	2.27	2.28
Ether extract	2.59	7.16

[1]Premix for laying hen (/kg diet): Vitamin A, 2,000,000 IU; Vitamin D_3, 600,000 IU; Vitamin K_3, 300 mg; Vitamin B_1 ,400 mg; Vitamin B_2, 1,000 mg; Vitamin B_6, 600 mg; Vitamin B_{12}, 1.3 mg; Nicotinic acid, 2,500 mg; Choline Chloride, 100 mg; D-calcium pentothal, 1,500 mg; Folic acid, 100 mg; Biotin, 2 mg; Mn, 12 g; Zn, 10 g; Fe, 8 g; Cu, 2 mg; I, 0.4 mg; Co, 0.4 mg.

การวัดสมรรถนะการผลิต

ทำการบันทึกหลังจากที่มีการผสมเทียมครั้งที่ 2 เป็นเวลา 21 วัน โดยบันทึกปริมาณอาหารที่กิน จำนวนไข่ และน้ำหนักไข่ จากนั้นนำไข่ที่ได้ในแต่ละวันวางเรียงในถาดฟัก และเก็บในห้องเก็บไข่อุณหภูมิ 19˚C ทุกๆ 1 สัปดาห์ นำไข่ที่รวบรวมได้เข้าตู้ฟักที่อุณหภูมิ 38˚C (Petersime incubator) เมื่อครบ 1 สัปดาห์ จึงทำการส่องไข่เพื่อหาจำนวนไข่มีเชื้อและไม่มีเชื้อ ในกรณีที่พบว่าเป็นไข่ไม่มีเชื้อจะต้องทำการตอกไข่และตรวจสอบบริเวณจุดกำเนิด (germinal disc) อีกครั้งเพื่อยืนยันผล (Biswas et al., 2010; Ahammad et al., 2013a) นำค่าต่างๆ ข้างต้นมาคำนวณเพื่อวัดสมรรถนะการผลิตและการมีชีวิตรอดของอสุจิดังสูตรต่อไปนี้ ผลผลิตไข่ในแต่ละวัน (%) = (จำนวนไข่ที่เก็บได้ทั้งหมดในแต่ละวัน/จำนวนไก่ทั้งหมดที่มีอยู่ในวันนั้น) X 100; อัตราการผสมติด (%) = (จำนวนไข่ทั้งหมดที่มีเชื้อ/จำนวนไข่ทั้งหมดที่นำเข้าฟัก) X 100 และสำหรับระยะเวลาการมีชีวิตรอดของอสุจิ (sperm fertile period length, day) จะนับจำนวนวันจากไข่มีเชื้อที่พบในวันสุดท้ายหลังจากที่ตรวจพบไข่เชื้อตายติดต่อกัน 3 วัน (Beaumont et al., 1992; Ahammad et al., 2013a)

การเก็บตัวอย่างของเหลวจากต่อมสร้างเปลือกไข่

เมื่อเก็บไข่จนครบ 21 วัน สุ่มไก่จำนวน 10 ตัว/กลุ่มการทดลอง เพื่อเก็บของเหลวจากต่อมสร้างเปลือกไข่ โดยเมื่อครบกำหนดระยะเวลาสร้างไข่ที่ 10 ชั่วโมง แม่ไก่จะถูกฉีดโพรสตาแกลนดิน (prostaglandin)

จำนวน 0.1 ml (ในอัตราโพรสตาแกลนดิน 1 ส่วน : น้ำเกลือ 9 ส่วน, V/V) เข้าสู่เส้นเลือดบริเวณปีก (wing vein) จากนั้นประมาณ 2 นาที ใช้มือนวดท้องดันออกมาทางทวาร (cloaca) จนกระทั่งไก่หลั่งของเหลวพร้อมด้วยฟองไข่ออกมา หลังจากนั้นนำตัวอย่างของเหลวที่ได้ผสมกับ 2X phosphate buffer saline, PBS (อัตราส่วน 1:1, V/V) แล้วแบ่งใส่ในหลอดเก็บไว้ที่ตู้ -80˚C จนกระทั่งนำมาทำการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ (Gautron et al., 1997)

การวิเคราะห์ทางเคมี

นำตัวอย่างของเหลวจากต่อมสร้างเปลือกไข่มาวิเคราะห์เอนไซม์กลูต้าไธโอน เปอร์ออกซิเดส ตามวิธีของ Sigma's enzymatic assay of glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) โดยใช้เครื่อง Microplate reader (BMG Labtech) แล้วนำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณปริมาตรโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปของ Trevigen's HT glutathione peroxidase assay kit ส่วนองค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลองวิเคราะห์โดยวิธี proximate analysis (ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใยหยาบ และเถ้า) (AOAC, 1998)

การวัดอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์และอวัยวะภายใน

เมื่อเสร็จสิ้นการทดลอง ทำการสุ่มไก่ไข่กลุ่มการทดลองละ 5 ตัว ชั่งน้ำหนักตัวและฆ่าโดยวิธีใช้ยาสลบ (Nembutal®) จำนวน 2 ml ฉีดเข้าบริเวณหลอดเลือดดำ (jugular vein) ผ่าช่องท้องเก็บชิ้นส่วนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ และอวัยวะภายใน โดยชั่งน้ำหนักท่อนำไข่ รังไข่ ตับ ไขมันช่องท้อง และวัดความยาวท่อนำไข่ ส่วนขนาดของฟอลิเคิล (follicle) ทำการจำแนกเป็นฟอลิเคิลขนาดเล็ก 5-10 mm และขนาดใหญ่ >10 mm ตามวิธี Attia et al. (2010) และ Oke et al. (2016) คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์อวัยวะต่างๆ ข้างต้นโดยเทียบกับน้ำหนักตัวมีชีวิต

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variances, ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มการทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DUNCAN) โดยใช้ SPSS 16.0 software และใช้ Orthogonal contrasts เพื่อเปรียบเทียบ1) ความแตกต่างค่าเฉลี่ยในอาหารพลังงานต่ำ vs. พลังงานปกติ และ 2) กลุ่มที่ไม่มีการเสริม vs. กลุ่มที่มีการเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียม

ผลการศึกษาและวิจารณ์

สมรรถนะการผลิต ระยะการมีชีวิตรอดของอสุจิ และอัตราการผสมติด

ผลของระดับพลังงาน วิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมต่อสมรรถนะการผลิตของไก่ไข่ได้แสดงไว้ใน Table 2 โดยพบว่า ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ และปริมาณพลังงานที่กินได้ต่อวัน (kcal ME/day) ในไก่ไข่กลุ่มที่ได้รับอาหารพลังงานปกติ (2,900 kcal ME/kg) มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารพลังงานงานต่ำ (2,650 kcal ME/kg) ($P<0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างในส่วนของปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักตัวสุดท้าย และการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว ($P>0.05$) ตามปกติไก่ไข่จะกินอาหารตามระดับพลังงานที่ร่างกายต้องการเพื่อนำไปใช้ในการดำรงชีพและสร้างผลผลิต แต่อาหารจะต้องมีพลังงานอยู่ในช่วง 2,600 -2,950 kcal ME/kg ถึงจะสามารถปรับเปลี่ยนปริมาณการกินได้ดี (Cufadar et al., 2010b; Perez-Bonilla et al., 2012) โดยพลังงานมีบทบาทโดยตรงต่อการให้ผลผลิตไข่ ซึ่ง Ribeiro et al. (2014) และ Yang et al. (2016) รายงานว่า ไก่ไข่ที่ได้รับอาหารที่มีพลังงาน 3,000 kcal ME/kg ให้ผลผลิตไข่ที่ดีกว่าอาหารที่มีพลังงาน 2,700 kcal ME/kg นอกจากนี้ Perez-Bonilla et al. (2012) ยังพบว่าไก่ไข่กลุ่มที่ได้รับอาหารพลังงาน 2,850 kcal ME/kg มีผลผลิตไข่สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารพลังงาน 2,650

kcal ME/kg ถึงแม้ว่าในการศึกษาครั้งนี้การให้อาหารพลังงานต่ำ (2,650 kcal ME/kg) จะมีผลทำให้น้ำหนักไข่ลดลง แต่น้ำหนักไข่ยังคงอยู่ช่วง 50-70 กรัม ที่สามารถนำเข้าฟักได้ แต่อย่างไรก็ตาม ไข่ที่มีน้ำหนักมากก็ส่งผลให้ลูกไก่มีน้ำหนักตัวแรกเกิดที่เพิ่มขึ้นเช่นกัน ซึ่งเป็นผลดีต่ออุสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ปีก

นอกจากนี้การเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมยังมีผลในการเพิ่มผลผลิตไข่ และน้ำหนักไข่ ($P<0.05$) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมในอาหารพลังงานต่ำ สามารถเพิ่มผลผลิตไข่ได้เทียบเท่ากับอาหารพลังงานปกติทั้งกลุ่มที่มีการเสริมและไม่มีการเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียม และยังพบว่าน้ำหนักไข่ในไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารพลังงานปกติร่วมกับการเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมมีค่าเฉลี่ยสูงสุด ($P<0.05$) สอดคล้องกับ Joachim et al. (2011) ศึกษาการเสริมวิตามินซีที่ระดับ 150 mg/kg ร่วมกับวิตามินอีที่ระดับ 150 mg/kg ในอาหารไก่ไข่ สามารถเพิ่มน้ำหนักไข่ได้สูงกว่ากลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังมีงานทดลองอื่นๆ เช่นการเสริมวิตามินซีที่ระดับ 200 mg/kg ร่วมกับวิตามินอีที่ระดับ150 mg/kg ในอาหารไก่แม่พันธุ์ (Aydin and Dikmen, 2014) และการเสริมวิตามินซีที่ระดับ 240 mg/kg ร่วมกับวิตามินอีที่ระดับ 100 mg/kg ในอาหารนกกระทาที่เลี้ยงภายใต้สภาวะอากาศร้อน (Attia et al., 2016) สามารถเพิ่มผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ การผสมติด และการฟักออกได้ Maysa et al. (2009) ศึกษาผลการเสริมซีลีเนียม 0.3 mg/kg ในอาหารไก่ไข่ พบว่าสามารถเพิ่มผลผลิตไข่ และน้ำหนักไข่ เนื่องจากภายใต้สภาวะเครียดจากความร้อนวิตามินอีมีบทบาทช่วยเพิ่มผลผลิตและน้ำหนักไข่ได้ โดยสามารถแก้ไขความบกพร่องในการสังเคราะห์สารโปรตีนตั้งต้นสำหรับสร้างไข่แดงหรือไวเทลโลจีนิน (vitellogenin) โดยวิตามินช่วยเพิ่มการสังเคราะห์ไวเทลโลจีนินจากตับเข้าสู่กระแสเลือดเพื่อนำไปสร้างไข่แดง (Ciftci et al., 2005)

ถึงแม้ว่าระดับพลังงาน วิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียม จากงานทดลองนี้ ไม่มีผลต่อในการเพิ่มระยะเวลาการมีชีวิตรอดของอสุจิ และอัตราการผสมติด ($P>0.05$) ซึ่งยังไม่สามารถอภิปรายผลได้อย่างแน่ชัด รวมถึงงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเรื่องดังกล่าวยังมีค่อนข้างจำกัด แต่อาจเป็นไปได้ว่าไก่ไข่ที่ใช้เป็นโมเดลในการศึกษาครั้งนี้ มีประสิทธิภาพการผลิตสูงสุดตามศักยภาพของพันธุกรรมอยู่แล้ว ซึ่งตามมาตรฐานไก่ไข่อีซ่า บราวน์ อายุ 33-38 สัปดาห์มีผลผลิตไข่ และน้ำหนักไข่ประมาณ 92.5-93.9% และ 62.4-63.3 กรัม ตามลำดับ จากงานทดลองนี้อาหารทดลองทุกสูตรยกเว้นกลุ่มอาหารพลังงานต่ำและไม่มีการเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมสามารถเพิ่มผลผลิตไข่ได้สูงกว่ามาตรฐาน รวมถึงจากการรวบรวมเอกสารงานวิจัยพบว่า สารประกอบทางเคมีจำพวก Ca^{2+}, Mg^{2+} , Zn^{2+}, กลูโคส รวมถึงค่า pH ของของเหลวจากต่อมสร้างเปลือกไข่มีบทบาทสำคัญในการปกป้องเยื่อหุ้มเซลล์ของอสุจิจากการถูกทำลายโดยสารอนุมูลอิสระ และยังเป็นพลังงานสำรองสำหรับการเคลื่อนที่ของอสุจิ (Ahammad et al., 2013b) จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) พบว่าของเหลวจากต่อมสร้างเปลือกไข่มีบทบาทในการยืดระยะการมีชีวิตรอดของอสุจิ และเพิ่มอัตราการผสมติด (Ahammad et al., 2013a) Breque et al. (2006) พบการสะสมวิตามินอีปริมาณสูงในเนื้อเยื่อบริเวณช่องคลอด ส่วนต่อระหว่างช่องคลอดและต่อมสร้างเปลือกไข่ และต่อมสร้างเปลือกไข่ ในไก่กลุ่มที่รับวิตามินอี 130 mg/kg เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับวิตามินอีที่ระดับ 30 mg/kg อีกทั้งยังพบปริมาณการสะสมของวิตามินซี กลูต้าไธโอนเปอร์ออกซิเดส และ ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสในเนื้อเยื่อบริเวณข้างต้นมีปริมาณแตกต่างกันในแต่ละช่วงอายุ ดังนั้นการปรับเปลี่ยนค่าทางเคมีของของเหลวภายในต่อมสร้างเปลือกไข่เพื่อยืดระยะเวลามีชีวิตรอดอสุจิและเพิ่มอัตราการผสมติด ควรคำนึงถึงสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่นๆ เพิ่มเติมที่สามารถออกฤทธิ์ได้ดีในท่อนำไข่ เช่น Cu, Zn และ Mn เป็นต้น โดยแร่ธาตุดังกล่าวเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส

Table 2 Effect of dietary energy, vitamin C, vitamin E and seleniumin in laying hen diets on productive performance, fertility and fertile period length of sperm

Parameters	Low energy		Normal energy		Pooled SEM	P-value	
	Non supplement	supplement	Non supplement	supplement		Contrasts[1] 1	2
Feed intake (g/day)	108.3	108.7	107.7	107.6	0.197	NS	NS
Energy intake (ME kcal/day)	287.0[b]	278.1[b]	310.0[a]	313.0[a]	1.208	0.0001	0.128
Final body weight (g)	1736.2	1760.0	1725.3	1732.8	6.945	NS	NS
Body weight change (g)	26.2	48.4	26.1	35.0	6.341	NS	NS
Egg production (%)	92.0[b]	93.9[a]	93.9[a]	94.5[a]	0.315	0.040	0.040
Egg weight (g)	58.4[c]	57.0[d]	58.0[b]	59.8[a]	0.127	0.0001	0.008
Fertile period length (day)	16.8	17.6	17.2	17.3	0.156	NS	NS
Fertility (%)	77.9	79.3	79.6	78.6	0.617	NS	NS

[a-d] Means within the same row with different letters differ significantly (P<0.05).

[1]Orthogonal contrasts: 1) low energy diet (2,650 kcal ME/kg) vs. normal energy diet (2,900 kcal ME/kg) and 2) non-supplement vs. supplement (200 mg/kg of vitamin C, 100mg/kg of vitamin E and 0.3 mg/kg of Se).

ลักษณะระบบสืบพันธุ์และอวัยวะภายใน

ผลของระดับพลังงาน วิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมในอาหาร ต่อลักษณะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์และอวัยวะภายใน **(Table 3)** โดยพบว่าน้ำหนักรังไข่ และไขมันในช่องท้องในไก่ไข่กลุ่มที่ได้รับอาหารพลังงานปกติ มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารพลังงานงานต่ำ (P<0.05) แต่ไม่พบความแตกต่างในส่วนของน้ำหนักและความยาวของท่อนำไข่ ขนาดฟอลิเคิล และน้ำหนักตับ (P>0.05) การที่น้ำหนักรังไข่เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ได้รับอาหารพลังงาน 2,900 kcal ME/kg อาจเนื่องมาจากไก่ได้รับพลังงานอย่างเพียงพอสำหรับการรักษาความสมบูรณ์ของรังไข่ แต่อย่างไรก็ตามระดับพลังงานที่สูงก็ส่งผลทำให้การสะสมไขมันในช่องท้องเพิ่มขึ้นเช่นกัน (Suder et al., 2007) น้ำหนักรังไข่ที่เพิ่มขึ้นจากการทดลองนี้บ่งชี้ถึงการพัฒนาฟอลิเคิลในระยะต่างๆ เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการตกไข่ (ovulation) ได้อย่างต่อเนื่องซึ่งให้ผลสอดคล้องกับผลผลิตไข่ที่สูงในกลุ่มที่ได้รับอาหารพลังงานปกติตามที่กล่าวมาข้างต้น Kruan and Nualhnuplong (2016) รายงานว่า น้ำหนักรังไข่ของไก่แม่พันธุ์ที่ได้รับอาหารพลังงาน 3,000 kcal ME/kg มีค่าสูงกว่าไก่กลุ่มที่ได้รับพลังงาน 2,850 kcal ME/kg แต่ไม่พบความแตกต่างในส่วนของน้ำหนักและความยาวของท่อนำไข่ ส่วนไขมันในช่องท้องซึ่งเป็นแหล่งพลังงานสำรองที่สำคัญสำหรับสร้างผลผลิตไข่ในช่วงการให้ผลผลิตสูงสุด (peak production) ตามมาตรฐานไก่ไข่พันธุ์อีซ่า บราวน์ การให้ผลผลิตสูงสุดอยู่ในช่วงอายุ 23-46 สัปดาห์ ซึ่งตรงกับช่วงอายุไก่ไข่ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ (33-38 สัปดาห์) แต่อย่างไรก็ตาม หากมีไขมันสะสมที่มากเกินไปหลังจากช่วงให้ผลผลิตสูงสุดแล้วจะทำให้ผลผลิตไข่ อัตราการผสมติดและการฟักลดลง อีกทั้งยังอาจเพิ่มอัตราการตายของแม่ไก่ได้ (Aviagen Inc, 2013b)

เป็นที่น่าสนใจว่าอาหารพลังงานปกติ เสริมด้วยวิตามินอี วิตามินซี และซีลีเนียม สามารถลดไขมันในช่องในท้องลงได้เทียบเท่ากับอาหารพลังงานต่ำ (P<0.05) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าวิตามินซีและวิตามินอีมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเมแทบอ ลิซึมของไขมัน โดยวิตามินอีสามารถเปลี่ยนลิโปโปรตีนในรูป low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) ไปเป็น high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) เนื่องจาก HDL-C จะเป็นตัวพาไขมันชนิดเลวหรือคอเลสเตอรอลจากเนื้อเยื่อมาทำลายที่ตับ (Sklan, 1983) อีกทั้งยังสามารถเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้นสำหรับการสร้างไข่แดงในเลือดเช่น ไวเทลโลจีนิน และ very low-density lipoprotein นอกจากนี้วิตามินซียังทำหน้าที่ร่วมกับเอนไซม์ 7α-hydroxylase ในการควบคุมการเปลี่ยนคอเลสเตอรอลเป็นกรดน้ำดี ทำให้ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดลดลง และใช้พลังงานในการสังเคราะห์สารตั้งต้นไข่แดง จึงทำให้การสะสมไขมันในร่างกายลดลง (Maziar and Zaghari, 2010) แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้วิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมไม่มีผลในการปรับปรุงระบบสืบพันธุ์และ

อวัยวะภายใน เนื่องจากช่วงระยะเวลาการเสริมที่สั้นซึ่งโดยปกติต้องใช้ระยะในการเสริมไม่น้อยกว่า 8 สัปดาห์ (Brennan et al., 2011) ดังนั้นระยะเวลาในการเสริมและช่วงอายุที่มีผลต่อการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ของแม่ไก่เป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม

Table 3 Effect of dietary energy, vitamin C, vitamin E and selenium on reproductive and internal organs in laying hens

Parameter	Low energy		Normal energy		Pooled SEM	P-value	
	Non Supplement	Supplement	Non supplement	Supplement		Contrasts[1] 1	2
Ovary weight (%BW)	2.0[b]	2.0[b]	2.3[ab]	2.4[a]	0.060	0.003	0.692
Oviduct weight (%BW)	3.2	3.2	3.1	3.2	0.038	NS	NS
Oviduct length (cm)	62.6	63.4	60.4	66.8	1.467	NS	NS
Small follicle (mm)	10.2	12.0	11.8	12.0	0.325	NS	NS
Large follicle (mm)	4.6	4.8	4.8	5.2	0.109	NS	NS
Liver weight (%BW)	2.2	2.1	2.4	2.1	0.044	NS	NS
Abdominal fat (%BW)	1.4[b]	1.5[b]	3.3[a]	2.1[b]	0.243	0.002	0.121

[a-b] Means within the same row with different letters differ significantly (P<0.05).

[1]Orthogonal contrasts: 1) low energy (2,650 kcal ME/kg) vs. normal energy diet (2,900 kcal ME/kg) and 2) non-supplement vs. supplement (200 mg/kg of vitamin C, 100mg/kg of vitamin E and 0.3 mg/kg of Se.

กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์กลูต้าไธโอนเปอร์ออกซิเดจากของเหลวที่หลั่งจากต่อมสร้างเปลือกไข่ (uterine fluid)

องค์ประกอบทางเคมีของของเหลวที่หลั่งจากต่อมสร้างเปลือกไข่ มีบทบาทสำคัญในการยืดอายุการมีชีวิตรอดของอสุจิและเพิ่มอัตราการผสมติด การเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมในอาหารสามารถเพิ่มกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์กลูต้าไธโอน เปอร์ออกซิเดสในของเหลวที่หลั่งจากต่อมสร้างเปลือกไข่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการเสริม (P<0.05) ดัง **Figure 1** ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Guido et al. (2013) และ Jing et al. (2015) ที่พบว่าการเสริมซีลีเนียมในอาหารไก่ไข่ สามารถเพิ่มกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์กลูต้าโอน เปอร์ออกซิเดสในเลือดได้สูงกว่ากลุ่มควบคุม โดยซีลีเนียมอินทรีย์มีประสิทธิภาพที่ดีกว่าซีลีเนียมอนินทรีย์ ทั้งนี้เนื่องจากซีลีเนียมเป็นส่วนประกอบสำคัญของเอนไซม์ กลูต้าไธโอน เปอร์ออก ซิเดส ซึ่งมีหน้าที่กำจัดไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และลิปิด เปอร์ออกไซด์ออกจากร่างกายในขั้นตอนสุดท้ายของกลไกการต้านอนุมูลอิสระ (Inoue, 2011; Mistry et al., 2011) อีกทั้งในการทดลองนี้ได้ใช้ซีลีเนียมอินทรีย์ในรูปซีลีเนียมยีสต์ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการดูดซึมและการนำไปใช้ประโยชน์ (bioavailability) ได้ดีกว่าซีลีเนียมอนินทรีย์ (Jing et al., 2015)

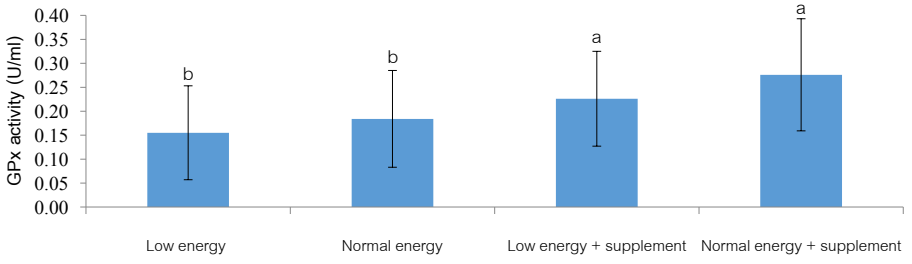

Figure 1 Effect of dietary energy, vitamin C, vitamin E and selenium on glutathione peroxidase activity in uterine fluid of laying hens

[a-b] Means with the different letters differ significantly (P<0.05).

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าพลังงานในอาหารที่ระดับปกติ (2,900 kcal ME/kg) สามารถเพิ่มผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ และการพัฒนารังไข่ นอกจากนี้การเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมในอาหารพลังงานต่ำ (2,650 kcal ME/kg) สามารถเพิ่มผลผลิตไข่ได้ รวมถึงการเสริมวิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมในอาหารพลังงานทั้ง 2 ระดับ ยังสามารถเพิ่มกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์กลูต้าไธโอน เปอร์ออกซิเดสในของเหลวจากต่อมสร้างเปลือกไข่ได้ แต่อย่างไรก็ตามระดับพลังงาน วิตามินซี วิตามินอี และซีลีเนียมในการทดลองนี้ไม่มีผลต่อระยะเวลาการมีชีวิตรอดของอสุจิและอัตราการผสมติด ดังนั้นควรมีการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่นๆ เพิ่มเติมที่จะสามารถปรับสภาพแวดล้อมภายในท่อนำไข่ให้เหมาะสม เพื่อยืดระยะเวลาการมีชีวิตรอดของอสุจิ และเพิ่มอัตราการผสมติด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มที่ละลายน้ำ (water-soluble antioxidants) หรือ กลุ่มเอนไซม์ (antioxidant enzymes)

เอกสารอ้างอิง

Ahammad, M. U., T. Miyazato, C. Nishino, H. Tatemoto, N. Okura, S. Okamoto, Y. Kawamoto, and T. Nakada. 2013a. Effects of fluid secreted from the uterus on duration of fertile egg production in hens and survivability and penetrability of fowl sperm *in vitro*. J. Poult. Sci. 50: 74-82.

Ahammad, M. U., T. Miyazato, C. Nishino, H. Tatemoto, N. Okura, S. Okamoto, Y. Kawamoto, and T. Nakada. 2013b. Plumping fluid added to storage medium increases twofold the functional life span of fowl spermatozoa in vitro at 4°C. Br. Poult. Sci. 54: 70-280.

Akhlaghi, A., Y. J. Ahangari, B. Navidshad, Z. A. Pirsaraei, M. Zhandi, H. Deldar, M. R. Rezvani, M. Dadpasand, S. R. Hashemi, R. Poureslami, and E. D. Peebles. 2014. Improvements in semen quality, sperm fatty acids and reproductive performance in aged Cobb 500 breeder roosters fed diets containing dried ginger rhizomes (*Zingiber officinale*). J. Poult. Sci. 93: 1236-1243.

Attia, Y. A., A. A. Abdalah, H. S. Zeweil, F. Bovera, A. A. Tag E-Din, and M. A. Araft. 2010. Effect of inorganic or organic selenium supplementation on productive performance, egg quality and some physiological traits of dual-purpose breeding hens. Czech J. Anim. Sci. 55: 505-519.

AOAC. 1998. Official Method of Analysis. 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.

Attia, Y. A., A. E. H. E. Abd El-Hamid, A. A. Abedalla, M. A. Berika, M. A. Al-Harthi, O. Kucuk, K. Sahin, and B. M. Abou-Shehema. 2016. Laying performance, digestibility and plasma hormones in laying hens exposed to chronic heat stress as affected by betaine, vitamin C, and/or vitamin E supplementation. Springerplus. 5: 1-12.

Aviagen Inc. 2013a. Ross PS Management handbook. Aviagen Inc., Huntsville, AL.

Aviagen Inc. 2013b. Ross 308 Parent stock: Nutrition specification. Aviagen Inc., Huntsville, AL.

Aydin, I., and B. Y. Dikmen. 2014. The effects of vitamin E and vitamin C on sexual maturity body weight and hatching characteristics of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) reared under heat stress. Anim. Sci. Pap. Rep. 32: 261-26.

Beaumont, C., J. P. Brillard, N. Millet, and M. De Reviers. 1992. Comparison of various characteristics of duration of fertility in hens. Br. Poult. Sci. 33: 649-661.

Biswas, A., J. Mohan, and K. V. H. Sastry. 2010. Effect of vitamin E on production performance and egg quality traits in Indian native kadaknath hen. J. Anim. Sci. 23: 396-400.

Brennana, K. M., C. A. Crowdus, A. H. Cantor, A. J. Pescatore, J. L. Barger, K. Horgan, R. Xiao, R. F. Power, and K. A. Dawson. 2011. Effects of organic and inorganic dietary selenium supplementation on gene expression profiles in oviduct tissue from broiler-breeder hens. Anim. Reprod. Sci. 125: 180-188.

Breque, C., P. Surai, and J. P. Brillard. 2006. Antioxidant status of the lower oviduct in the chicken varies with age and dietary vitamin E supplementation. Mol. Reprod. dev. 73: 1045-1051.

Ciftci, M., O. Nihat-Ertas, and T. Guler. 2005. Effects of vitamin E and vitamin C dietary supplementation on egg production and egg quality of laying hens exposed to a chronic heat stress. Revue. Med. Vet. 156: 107-111.

Cufadar, Y., O. Olgum, Y. Bahtiyarca, and A. O. Yildiz. 2010a. Effects of dietary energy content on the performance and laying traits of the breeder chukar partridge (*Alectoris chukar*) housed in battery cages or litter floor pens. Revue. Med. Vet. 161: 99-103.

Cufadar, Y., O. Olgum, Y. Bahtiyarca, and A. O. Yildiz. 2010b. Effects of dietary energy and protein on performance, reproduction traits and nitrogen excretion of breeder chukar partridges (*Alectoris chukar*). Revue. Med. Vet. 161: 151-156.

Ebeid, T. A. 2012. Vitamin E and organic selenium enhances the antioxidative status and quality of chicken semen under high ambient temperature. Br. Poult. Sci. 53: 708-714.

Enting, H., W. J. A. Boersma, J. B. W. J. Cornelissen, S. C. L. Winden, M. W. A. Verstegen, and P. J. van der Aar. 2007. The effect of low-density broiler breeder diets on performance and immune status of their offspring. J. Poult. Sci. 86: 282-290.

Gautron. J., M. T. Hincke, and Y. Nys. 1997. Precursor matrix proteins in the uterine fluid change with stages of eggshell formation in hens. Connect Tissue Res. 36: 195-210.

Guido, I., A. Agazzi, M. Ferroni, R. Rebucci, A. Fanelli, A. Baldi, V. Dell'Orto, and G. Savoini. 2013. Effects of inclusion of selenium-enriched yeast in the diet of laying hens on performance, eggshell quality, and selenium tissue deposition. Ital. J. Anim. Sci. 12: 1-9.

Inoue, M. 2011. Protective mechanisms against reactive oxygen species. pp. 281-290. Department of

Biochemistry and Molecular Pathology, Osaka City University Medical School, Abeno, Osaka, Japan.

Jing, C. L., X. F. Dong, Z. M. Wang, S. Liu, and J. M. Tong. 2015. Comparative study of DL-selenomethionine vs sodium selenite and seleno-yeast on antioxidant activity and selenium status in laying hens. Poult. Sci. 94: 965-975.

Joachim, J. A., A. P. Bello, and A. M. Trujillo. 2011. Impact of heat stress on egg quality in layer hens supplemented L-ascorbic acid and DL-tocopherol acetate. Vet. Arhiv. 81: 119-132.

Kruan, B., and P. Nualhnuplong. 2016. Effects of dietary protein and energy levels on growth performances and reproductive system development in female Betong chicken (*Gallus domesticus*) during growing-pullet period. Khon Kaen Agr. J. 3: 469-478.

Leeson, S., and J. D. Summers. 2005. Commercial poultry nutrition. 3rd Edition. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

Maysa, M. H, A. M. H. El-Sheikh, and E. A. Abdalla. 2009. The effect of organic selenium supplementation on productive and physiological performance in a local strain of chickens. Egypt. Poult. Sci. 29: 1061-1084.

Maziar, M. A., and M. Zaghari. 2010. Does dietary vitamin E or C decrease egg yolk cholesterol?. Biol. Trace. Elem. Res. 138: 60-68.

Mistry, H. D., F. B. Pipkin, W. G. Redman, and L. Poston. 2011. Selenium in reproductive health. J. Obstet. Gynecol. 206: 21-30.

Notional Research Council. 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9th Edition. National Academy Press, Washington D.C.

Oke, O. E., A. O. Ladokun, and O. M. Onagbesan. 2016. Reproductive performance of layer chickens reared on deep litter system with or without access to grass or legume pasture. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 100: 229-235.

Pasupuleti, V. 2007. Role of glycolysis and respiration in sperm metabolism and motility. M. S. Thesis, Kent State University. Ohio, United States.

Prez-Bonilla, A., S. Novoa, J. Garca , M. Mohiti-Asl, M. Frikha, and G. G. Mateos. 2012. Effects of energy concentration of the diet on productive performance and egg quality of brown egg-laying hens differing in initial body weight. Poult. Sci. 91: 3156-3166.

Ribeiro, P. A. P., J. J. B. Matos, L. J. C. Lara, L. F. I. Araujo, R. I. Albuquerque, and N. C. Baiao. 2014. Effect of dietary energy concentration on performance parameters and egg quality of white leghorn laying hens. Braz. J. Poult. Sci. 16: 381-388.

Scott. M. L. 1982. Nutrition of the chicken. 1st Edition. Ithaca, NY.

Sigma-Aldrich Co. LLC. 2012. Glutathione peroxidase cellular activity assay Kit. Sigma-Aldrich Co. LLC., Louis, USA.

Sklan D. 1983. Effect of high vitamin A or tocopherol intake on hepatic lipid metabolism and intestinal absorption and secretion of lipids and bile acids in the chick. Br. J. Nutr. 50: 409-416.

Skrivan, M., M. Marounek, M. Englmaierova, and V. Skrivanova. 2013. Influence of dietary vitamin C and selenium, alone and in combination, on the performance of laying hens and quality of eggs. Czech. J. Anim. Sci. 58: 91-97.

SPSS. 2008. User's Guide, Version 16.0. SPSS Inc. Chicago, IL.

Sunder, G. S., C. V. Kumar, A. K. Panda, M. V. L. N. Raju, S. V. R. Rao, N. C. S. Gopinath, and M. R. Reddy. 2007. Restriction of metabolizable energy in broiler growers and its impact on grower and breeder performance. J. Anim. sci. 20: 1258-1265.

Surai, P.F. 2005. Minerals and anti-oxidants. Anti-oxidant Research, Alltech (UK) Ltd., Stamford, Lincs.

Surai, P.F., and V.I. Fisinin. 2014. Selenium in poultry breeder nutrition: An update. Anim. Feed Sci. Technol. 191: 1-15.

Wen, J., L. Zhang and A. Shan. 2013. The effect of vitamin E on laying performance and egg quality in laying hens fed corn dried distillers grains with solubles. Poult. Sci. 92: 2956-2964.

Yang, D., X. Bu, N. Zhang, L. Li, and X. Zou. 2016. Effects of metabolizable energy and crude protein levels on laying performance, egg quality and serum biochemical indices of Fengda-1 layers. Anim. Nutr. 2: 93-98.