

한우 후보종모우에 selenium과 vitamin E 투여가 정액성상에 미치는 영향

이성수 · 박노형 · 원유석 · 박동현* · 김종복* · 양부근*

축협중앙회 개량사업본부
강원대학교 동물자원과학대학*
(2000년 5월 7일 게재승인)

Effects of selenium and vitamin E administration on semen characteristics in Hanwoo young bulls

Seoung-soo Lee, No-hyoung Park, You-seog Won, Dong-heon Park* ,
Jong-bok Kilm* , Boo-keun Yang*

*Livestock Improvement Main Center, NLCF
College of Animal Resource Science, Kangwon National University**
(Accepted by May 7, 2000)

Abstract : To improve the semen production, the selenium(Se) and vitamin E(Vit. E) were administrated into Hanwoo young sire for intensification an antioxidant system and the taurine were supplemented into semen extender for improving the semen characteristics. The 16 heads ranging from twenty to thirty two months of age were randomly assigned to control group, Se-administrated group(Se-group), Vit. E-administrated group(Vit. E-Group) and Se and Vit. E administrated group(Se and Vit. E-group). Se and Vit. E dministrated 3 times every 30 days by intramuscular injection. The administration of Se, Vit. E, and Se and Vit. E didn't affect on semen volume, sperm concentration, and total sperm number among all groups($p > 0.05$). Adiministration of Se improved sperm motility and viability. Motility of Se-group and control were 26.01% and 19.20%, respectively($p < 0.05$). Viability of Se-group(47.07%) was higher than control group(35.73%), Vit. E group(36.55%)($p < 0.05$). The administration of Se and Vit. E didn't affect sperm capacitation and acrosome reaction. The 100mM taurine supplement into semen extender increased the motility of frozen/thawed semen in the Vit. E-group($p < 0.05$) and had a beneficial effects on decreasing abnormality of frozen/thawed semen in all groups($p < 0.05$). These results indicate that Se administration improve sperm motility and viability, and the taurine supplement into semen extender decrease abnormality in Hanwoo young sire.

Key words : selenium, vitamin E, taurine, antioxidant, Hanwoo.

서 론

모든 생체의 정상적인 체내대사과정 중에서 free radical이 생성되어 존재하는데 free radical 제거계의 활성이 저하되거나 혹은 free radical 생성계의 촉진 등으로 균형이 깨어져 과다하게 생성되면 세포의 과산화를 일으켜 노화를 일으키거나 면역력을 떨어뜨려 염증반응 및 암을 유발하는 등 세포에 유해한 영향을 나타낸다¹. 이 free radical을 제거해주는 방어기작으로 생체내에서는 효소적 방어계와 비효소적 방어계가 있다. 효소적 방어계로는 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px), glutathione S-transferase(GST) 및 catalase 등이 있고, 비효소적 방어계로 작용하는 물질로는 glutathione, vitamin A, C, E, β -carotene 및 selenium(이하 "Se") 등이 있다^{2,3}. 이 중 Se는 생물학적 활성이 매우 낮은 tetraiodothyronine을 활성이 높은 갑상선 호르몬인 triiodothyronine으로 전환시키는 selenoenzyme인 type I iodothyronone 5-deiodinase의 한 구성성분인 GSH-Px의 필수 구성성분이며⁴, vitamin E와 상호보완 작용이 있어 vitamin E의 생체 요구량을 감소시키는 작용을 가지고 있다⁵. GSH-Px는 glutathione을 기질로 하여 lipid peroxide와 H₂O₂를 각각 organic hydroperoxide와 H₂O로 변환시켜 free radical의 형성을 방지하는 항산화제로 작용한다⁶.

웅성에서 적정 농도로 존재하는 superoxide anion, hydrogen peroxide 및 nitric oxide 등은 정자의 과운동화(hyperactivation), 수정능 획득 및 침체반응을 유도하는 작용을 한다⁷⁻¹⁰. 그러나 정액과 정자내에서 free radical이 과다한 농도로 존재시 ATP 결핍상태가 되어 정자의 세포막을 과산화상태로 만들어 polyunsaturated fatty acid의 농도를 증가시키며 정자세포의 방어계의 활성이 저하되어 정자의 운동성과 형태 등에 유해한 영향을 미친다^{11,12}.

Taurine은 웅성 생식기내에 존재하면서 정자의 생존율과 운동율을 유지시켜 주며 정자의 수정능 획득과 침체반응에 중요한 역할을 한다¹³⁻¹⁵.

따라서 본 연구에서는 체내의 대표적인 비효소적 항산화제인 Se과 vitamin E를 한우 후보종모우에 투여하여 종모우 생리적 항산화기구를 강화시키고 정액동결보존시 정액회석제에 taurine을 첨가하여 한우 종모우의 정액생산능력을 향상시키고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시동물 : 축협중앙회 개량사업본부 한우개량부에서 사육중인 후보종모우 중 20~32개월령 사이의 16두를 선발하여 1996년 6월부터 9월까지 4개월간 시험하였으며 공시축은 대조구, Se 투여구, Vit. E 투여구 및 Se과 Vit. E 혼합투여구에 각각 4두씩 총 20두를 완전임의배치법에 의해 배치하였다.

사양관리 : 사료급여는 Table 1과 같이 급여하였으며 농후사료는 3.0~4.0kg, 조사료는 오차드그라스가 주초종인 목건초를 6.5~7.5kg씩 급여하였으며 종합 vitamin 제제인 비타폴트 A(Eagle Chemical, Co., Korea)와 효모의 대사생성물이 주성분인 이스트켈처(Diamond V "MP", Mills, Inc., Cedar Rapids, IA)를 일일 두당 20g씩 급여하였다. 사료성분은 AOAC¹⁶ 방법에 준하여 2개월 간격으로 분석한 후 급여하였다.

약물제조 및 투여방법 : Se과 Vit. E는 각각 sodium selenite(Sigma. Co.) 및 DL- α -Tocopherol acetate(Sigma)와 Tween 80을 혼합 제조하였으며 Se와 Vit. E 혼합 약물은 앞의 방법으로 제조된 Se 0.1mg과 Vit. E 1,500IU 비율로 혼합하여 제조하였다. 체중 kg당 Se는 0.1mg, Vit. E는 1,500IU 그리고 Se와 Vit. E 혼합 약물은 Se 0.1mg와 Vit. E 1,500IU을 30일 간격으로 3회 근육주사하였다.

Table 1. Feeding program for Hanwoo young bulls

Body weight(kg)	Gain (kg/day)	Nutrient requirement		In diet	
		CP ¹⁾	TDN ²⁾	CP	TDN
400-500	0.6	0.99	6.10	1.14	7.11
501-600	0.4	0.94	6.70	1.19	6.75

¹⁾ CP: crude protein.

²⁾ TDN: total digestible nutrients.

Table 2. Composition of experimental diets(%)

Item	Concentrate	Roughage
Ingredients		
Corn, ground	64.84	
Wheat, ground	15.01	
Soybean meal	15.00	
Fish meal	4.00	
Salts	0.50	
Tricalcium phosphate	0.50	
Min.-Vit. premix*	0.10	
Flavor	0.05	
Chemical composition		
Moisture	13.19	10.20
Crude protein	16.25	10.85
Crude fat	3.56	2.58
Crude fiber	3.42	28.70
Crude ash	3.98	8.43
Calcium	0.42	0.29
Phosphorus	0.54	0.60
TDN	75.5	56.83

* Min.-Vit. premix : Vitamin A 4,000,000IU ; Vitamin B₃ 800,000IU ; Vitamin E 20,000IU ; Fe 50,000Mmg ; Co 100mg ; Cu 5,000mg ; Mn 20,000mg ; Se 100mg ; Antioxidant 2,000mg.

정액성상 검사 : 각 시험구의 종모우는 실험개시전에 3회 채취하였으며 약물투여후는 30일 간격으로 종모우 당 3회씩(3일 간격) 채취하여 그 정액성상을 1회 평균치로 하였으며 총 3회 채취하였다. 그리고 Taurine 첨가구는 희석제에 100mM 농도로 첨가하여 동결정액을 생산하였다.

정액량과 정자농도 : 정액량은 채취직후 정액채취관의 눈금으로 직접 측정하였고 정자농도는 원정액 0.01 ml를 4.99ml sodium citrate가 들어있는 phototube에 넣어 잘 혼합한 후 파장 525nm로 조정된 spectrophotometer (Spectronic 20, Milton Roy Co.)를 이용하여 측정하였다.

유효정자수 : 축협 개량사업본부의 방법에 준하여 시험구의 정액을 채취하여 제조된 동결정액을 37℃에서

1분간 용해한 후 정액 200µl에 5%의 FCS(Fetal-calf serum, Gibco)이 첨가된 생리식염수 1.8ml를 첨가하여 1:10으로 희석한 다음 Markler's counting chamber(Sefi-Medical Instruments, Israel)에 점적하여 광학현미경(×200-400)하에서 사멸정자, 전진운동정자, 회전운동정자 및 머리가 절단된 정자 등을 계산한 후 -20℃에 15분간 넣어 동결시킨 후 용해한 다음 총정자수를 측정 한 후 전진운동비율을 계산하여 유효정자수를 계산하였다.

생존율 검사 : Garner *et al*¹⁷의 SYBR-14 이중형광염색법을 수정보완하여 실시하였다. 용해된 정액을 HEPES buffer 7.8ml를 첨가하여 1:40으로 희석한 다음, 희석된 정액 5ml에 SYBR-14 염색액(Probes, USA) 5µl를 첨가하여 10분간 염색한 후 2.4mM propidium iodide(Sigma.) 25 µl를 첨가하여 10분간 염색하여 FITC filter가 부착된 형광현미경(×200-400)하에서 관찰하였다.

기형을 검사 : Rose-Bengal 염색법으로 실시하였는데 용해정액 200µl에 생리식염수 4ml를 혼합, 원심분리(1,000rpm, 10분)로 1회 세정한 후 상층액을 제거하고 5%의 FCS가 첨가된 0.85% 생리식염수 200ml를 첨가시켰다. 지방성분을 제거한 슬라이드글라스를 준비한 후 50µl의 정자부유액을 옮겨 도말하고 0.5ml의 Rose-Bengal 염색액을 떨어뜨려 도말한 후 10분간 염색하고 즉시 염색액을 제거한 후 완전히 건조시켜 광학현미경(×400)하에서 관찰하였다.

첨체반응을 검사 : DasGupta *et al*¹⁸의 chlortetracycline (CTC) 이중형광염색법을 수정보완하여 실시하였다. 용해정액에 6ml washing medium을 혼합, 원심분리(1,500 rpm, 10분)로 2회 세정한 후 상층액을 제거하고 1ml complete medium을 첨가하여 항온기에서 40분간 37℃에서 배양한 다음, 369µl 정액에 4µl Hoechst 33258 염색액(Sigma)을 첨가하여 3분간 염색한 후 4ml의 3% PVP를 혼합, 원심분리(1,500rpm, 10분)로 세정한 다음 상층액을 제거하고 50µl complete medium을 첨가하였다. Hoechst 33258로 염색된 정액 45µl에 동량의 CTC 고정액을 첨가하고 slide glass에 10µl 정액과 10µl 1,4-diazabicyclo(2,2,2)-octane(DABCO, Sigma)을 옮겨 커버글라스를 덮은 다음, excitation : 400-440nm, emission : 470nm인 filter가 부착된 형광현미경(×200-400)하에서 관찰하였다.

통계분석 : 한우 후보종모우에 Se과 Vit. E 투여효과 및 동결보존시 taurine 첨가 효과를 구명하기 위하여 SAS¹⁹의 GLM 분석하였으며 model 식은 다음과 같다.

$$Y_{ij} = \mu + B_i + e_{ij}$$

Y_{ij} = 각 정액성상에 대한 측정치.

μ = 각 시험구의 정액성상에 대한 평균치.

B_i = Se과 Vit. E 투여 효과 및 동결보존시 taurine 첨가 효과($i = 1, 2, 3$ 혹은 $1, 2$) 그리고 e_{ij} 는 임의의 오차이다.

결 과

정액량은 모든 시험구에서 시험 전보다 감소하는 경향을 나타내었고 Vit. E 투여구에서 시험 전보다 3회 투

여후에 급격히 감소하였고($p < 0.05$) Se과 Vit. E 혼합투여구에서는 감소와 증가를 반복하여 뚜렷한 경향이 나타나지 않았으며 평균 정액량은 대조구, Se 투여구, Vit. E 및 Se과 Vit. E 혼합투여구에서 각각 5.05, 5.40, 5.06 및 5.83ml로 시험구간에 커다란 차이가 없었다($p > 0.05$). 정자농도는 Vit. E 투여구만 시험 전보다 점차로 감소하는 경향이 나타났지만 뚜렷하지는 않았다. 평균 정자농도는 대조구 19.2, Se 투여구 18.5, Vit. E 투여구 21.7 및 Se과 Vit. E 혼합투여구 17.4억/ml로 시험구간에 뚜렷한 차이가 없었다($p > 0.05$). 총정자수는 대조구와 Se 투여구는

Table 3. Effects of selenium and vitamin E administration on raw semen characteristics in Hanwoo young bulls

Treatment	No. of injection	Semen vol. (ml)	Sperm con. ($\times 10^8$ /ml)	Total sperm no. ($\times 10^8$ /cja.)
Control	0	5.59 \pm 0.75 ^{abcd}	18.5 \pm 2.86 ^a	107.8 \pm 34.07 ^{ab}
	1	4.54 \pm 0.67 ^{abc}	18.7 \pm 3.16 ^a	84.9 \pm 23.88 ^a
	2	5.59 \pm 0.96 ^{abcd}	20.6 \pm 3.54 ^a	114.0 \pm 27.87 ^{ab}
	3	4.50 \pm 0.46 ^{ab}	19.0 \pm 2.58 ^a	85.6 \pm 19.09 ^a
	Total	5.05 \pm 0.62 ^{abcd}	19.2 \pm 0.93 ^a	98.3 \pm 15.36 ^a
Selenium	0	5.78 \pm 1.21 ^{bcd}	18.0 \pm 4.69 ^a	101.3 \pm 17.63 ^{ab}
	1	5.35 \pm 0.49 ^{abcd}	19.0 \pm 5.27 ^a	103.4 \pm 33.34 ^{ab}
	2	5.77 \pm 0.53 ^{bcd}	19.1 \pm 1.29 ^a	108.4 \pm 16.06 ^{ab}
	3	4.71 \pm 0.51 ^{abc}	17.8 \pm 4.27 ^a	81.8 \pm 12.55 ^a
	Total	5.40 \pm 0.50 ^{abcd}	18.5 \pm 0.66 ^a	98.7 \pm 11.69 ^a
Vitamin E	0	5.69 \pm 1.14 ^{bcd}	23.4 \pm 5.43 ^a	140.0 \pm 45.20 ^b
	1	4.52 \pm 0.54 ^{ab}	23.4 \pm 5.46 ^a	101.3 \pm 24.28 ^{ab}
	2	5.56 \pm 1.06 ^{abcd}	21.8 \pm 5.87 ^a	119.3 \pm 28.30 ^{ab}
	3	4.36 \pm 0.29 ^a	18.4 \pm 3.98 ^a	80.1 \pm 22.03 ^a
	Total	5.06 \pm 0.71 ^{abcd}	21.7 \pm 2.36 ^a	110.2 \pm 25.54 ^{ab}
Selenium + Vitamin E	0	6.01 \pm 0.90 ^{dc}	15.8 \pm 4.85 ^a	93.5 \pm 19.87 ^a
	1	5.54 \pm 0.51 ^{abcd}	16.3 \pm 4.05 ^a	90.4 \pm 23.18 ^a
	2	7.09 \pm 0.41 ^c	20.4 \pm 2.34 ^a	142.0 \pm 17.02 ^b
	3	4.69 \pm 0.99 ^{abc}	17.2 \pm 2.48 ^a	79.8 \pm 17.55 ^a
	Total	5.83 \pm 1.00 ^{cd}	17.4 \pm 2.08 ^a	101.4 \pm 27.68 ^{ab}

a,b,c,d,e Different superscripts within each column are different($p < 0.05$).

Table 4. Effects of selenium and vitamin E administration on characteristics of frozen/thawed semen in Hanwoo young bulls

Treatment	No. of injection	Motility (%)	Viability (%)	Abnormality (%)
Control	0	20.42±3.92 ^{abc}	41.92±7.12 ^{cdef}	19.17±3.85 ^{abcd}
	1	19.33±2.62 ^a	31.00±2.13 ^a	22.35±3.02 ^{cd}
	2	18.00±3.04 ^a	30.33±4.00 ^a	19.53±2.46 ^{abcd}
	3	19.05±3.21 ^a	39.68±2.39 ^{bcde}	24.12±3.24 ^d
	Total	19.20±0.99 ^a	35.73±5.93 ^{abcd}	21.29±2.36 ^{bcd}
Selenium	0	22.97±4.61 ^{abcde}	51.17±4.36 ^b	18.56±4.90 ^{abc}
	1	26.63±4.17 ^{dc}	49.68±4.79 ^b	17.67±3.19 ^{abc}
	2	26.45±4.30 ^{dc}	41.25±8.08 ^{cdef}	16.48±2.55 ^{ab}
	3	28.00±5.47 ^c	46.18±3.94 ^{efg}	19.25±3.39 ^{abcd}
	Total	26.01±2.14 ^{cde}	47.07±4.41 ^{fg}	17.99±1.20 ^{abc}
Vitamin E	0	23.16±4.86 ^{abcde}	33.17±3.61 ^{ab}	17.79±1.63 ^{abc}
	1	23.40±4.28 ^{abcde}	34.93±2.52 ^{abc}	20.85±2.59 ^{abcd}
	2	20.58±1.66 ^{abc}	37.08±1.77 ^{abcd}	21.43±2.53 ^{bcd}
	3	20.03±3.22 ^{ab}	41.00±3.86 ^{cdef}	20.05±5.42 ^{abcd}
	Total	21.79±1.74 ^{abcd}	36.55±3.37 ^{abcd}	20.03±1.60 ^{abcd}
Selenium + Vitamin E	0	19.50±3.08 ^a	42.50±4.22 ^{def}	18.17±2.36 ^{abc}
	1	23.43±2.14 ^{abcde}	36.08±3.77 ^{abcd}	18.83±4.40 ^{abc}
	2	23.35±3.41 ^{abcde}	37.18±3.26 ^{abcd}	15.80±1.63 ^a
	3	25.76±3.85 ^{bcde}	46.52±4.52 ^{efg}	18.20±2.60 ^{abc}
	Total	23.01±2.59 ^{abcde}	40.57±4.86 ^{cdef}	17.75±1.34 ^{abc}

^{a,b,c,d,e,f,g} Different superscripts within each column are different ($p < 0.05$).

뚜렷한 경향을 보이지 않았고 Vit. E 투여구에서는 3회 투여 후 급격한 감소를 나타내었고 ($p < 0.05$), Se과 Vit. E 혼합투여구는 2회 투여 후 급격히 증가했다가 3회 투여 후 급격히 감소하였다 ($p < 0.05$). 평균 총정자수는 각각 98.3, 98.7, 110.2 및 101.4억으로 시험구간에 뚜렷한 차이가 없었다 ($p > 0.05$).

정자 활력은 Se과 Vit. E 혼합투여구에서만 3회 투여 후 유의적으로 증가하였을 뿐 ($p < 0.05$) 다른 시험구에서는 뚜렷한 변화가 없었고, 평균 정자활력은 Se 투여구가 26.01%로서 대조구 19.20% 보다 높은 것으로 나타났으며 ($p < 0.05$), Vit. E 투여구(21.79%), Se과 Vit. E 혼합투여

구(23.01%) 보다도 다소 높은 것으로 나타났다. 생존율은 대조구에서 시험시작 후 1~2개월에 감소하였으며 ($p < 0.05$), Se 투여구에서는 2회 투여 후에 감소하였고 ($p < 0.05$) Se과 Vit. E 혼합투여구에서는 3회 투여 후에 증가하였다 ($p < 0.05$). Se 투여구의 평균 생존율이 47.07%로서 대조구 및 Vit. E 투여구의 35.73, 36.55% 보다 높게 나타나 ($p < 0.05$) Se 투여구가 대조구보다 활력과 생존율에서 높은 성적이 나타났다 ($p < 0.05$).

그리고 기형율에 있어서는 모든 시험구에서 시험기간 동안에 뚜렷한 변화를 나타내지 않았고 평균 기형율에 있어서는 대조구, Se 투여구, Vit. E 투여구 및 Se과 Vit.

Table 5. Effects of taurine supplements into extender on characteristics of frozen/thawed semen in Hanwoo young bulls

Treatment	Taurine (100mM)	Motility (%)	Viability (%)	Abnormality (%)
Control	-	19.20±0.99 ^a	35.73±5.93 ^a	21.29±2.36 ^c
	+	22.15±1.26 ^{abc}	45.52±7.08 ^{abc}	13.14±2.14 ^{ab}
Selenium	-	26.01±2.14 ^d	47.07±4.41 ^{abc}	17.99±1.20 ^{bc}
	+	26.43±2.79 ^d	51.61±11.34 ^c	13.13±5.13 ^{ab}
Vitamin E	-	21.79±1.74 ^{ab}	36.55±3.37 ^{ab}	20.03±1.60 ^c
	+	26.32±1.45 ^d	47.73±3.34 ^{bc}	14.27±4.71 ^{ab}
Selenium + Vitamin E	-	23.01±2.59 ^{bcd}	40.57±4.86 ^{abc}	17.75±1.34 ^{bc}
	+	25.52±2.74 ^{cd}	50.60±13.21 ^c	11.70±4.92 ^a
Overall mean	-	22.50±2.83 ^{abc}	39.98±5.18 ^{abc}	19.27±1.69 ^c
	+	25.11±2.01 ^{bcd}	48.75±2.63 ^c	13.01±1.05 ^{ab}

^{a,b,c,d} Different superscripts within each column are different ($p < 0.05$).

E 혼합투여구에서 각각 21.29, 17.99, 20.03 및 17.75%로 시험구간 커다란 차이를 나타내지 않았다($p > 0.05$).

정액동결 보존시 희석액에 taurine 첨가 효과는 대조구, Se 투여구, Vit. E 투여구, Se과 Vit. E 혼합투여구 등 모든 시험구에서 무첨가구보다 첨가구가 정자 활력 및 생존율이 높은 경향을 나타내었고 특히 활력에서는 Vit. E 투여구에서 taurine 첨가시 활력이 높아지는 것으로 나타났다($p < 0.05$), 기형율에 있어서도 대조구, Vit. E 투여구, Se과 Vit. E 투여구 등에서 taurine 첨가구가 무첨가구보다 낮았으며($p < 0.05$) 다른 시험구에서도 taurine 첨가시 기형정자 비율이 감소하는 경향을 나타냈다.

평균 활력 및 생존율에 있어 taurine 첨가구와 무첨가구가 각각 22.50와 25.11% 및 39.98과 48.75%로 첨가구가 다소 높게 나타났으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다($p > 0.05$). 그러나 평균 기형율에 있어서는 taurine 첨가구가 13.01%로 무첨가구 19.27% 보다 낮게 나타났다($p < 0.05$).

대조구, Se 투여구, Vit. E 투여구, Se과 Vit. E 혼합투여구 등 모든 시험구에서 수정능 획득과 침체반응이 모두 일어나지 않은 비율(이하 "F율")은 각각 16.86, 15.87, 15.50 및 16.37%로 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다($p > 0.05$). 수정능 획득은 일어나지만 침체반응은 일어나지 않은 비율(이하 "B율")도 대조구 65.63, Se 투여구 64.54,

Vit. E 투여구 65.55 그리고 Se과 Vit. E 혼합투여구 63.98%로 뚜렷한 차이를 나타내지 않았으며($p > 0.05$) F율과 B율과 같이 수정능 획득과 침체반응이 모두 일어난 비율(이하 "AR율")도 모든 시험구간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다($p > 0.05$).

동결정액 제조시 수정능 획득과 침체반응에 관한 희석체에 taurine 첨가효과는 F율에 있어 taurine 무첨가구가 첨가구보다 대조구, Se 투여구, Vit. E 투여구, Se과 Vit. E 혼합투여구 등 모든 시험구에서 다소 높게 나타나고 특히 Se과 Vit. E 혼합투여구에서는 taurine 무첨가구가 첨가구보다 높게 나타났다($p < 0.05$). 평균 F율에 있어서도 taurine 무첨가구와 첨가구가 각각 16.15%, 14.71%로 나타나 무첨가구가 다소 높게 나타났지만 뚜렷한 차이는 나타내지 않았다($p > 0.05$).

B율에 있어서는 taurine 무첨가구와 첨가구간의 뚜렷한 차이를 나타내지 않았으며($p > 0.05$) AR율에 있어서는 모든 시험구에 있어 taurine 첨가구가 무첨가구보다 다소 높게 나타나 평균 AR율에 있어서도 taurine 첨가구와 무첨가구가 각각 22.03%와 18.89%로 나타나 첨가구가 높게 나타났지만 유의적인 차이는 인정되지 않았다($p > 0.05$).

고 찰

Table 6. Effects of selenium and vitamin E administration on capacitation and acrosomal exocytosis of frozen/thawed semen in Hanwoo young bulls

Treatment	No. of injection	F ¹⁾ (%)	B ²⁾ (%)	AR ³⁾ (%)
Control	0	18.33±2.38 ^a	60.75±3.18 ^{ab}	20.73±1.76 ^{cdefg}
	1	16.60±3.50 ^a	67.90±5.97 ^{abcd}	15.50±2.71 ^{abc}
	2	14.75±3.63 ^a	63.93±4.19 ^{abc}	21.32±2.37 ^{defg}
	3	17.75±3.30 ^a	69.93±5.63 ^{cd}	12.33±3.55 ^a
	Mean	16.86±1.58 ^a	65.63±4.10 ^{abcd}	17.47±4.31 ^{abcde}
Selenium	0	17.10±3.04 ^a	63.60±4.87 ^{abc}	19.38±6.70 ^{bcddefg}
	1	16.60±3.19 ^a	64.73±4.01 ^{abcd}	18.68±4.50 ^{bcddef}
	2	15.43±3.59 ^a	60.08±4.78 ^a	24.48±2.39 ^g
	3	14.33±3.69 ^a	69.73±6.13 ^{cd}	15.75±2.87 ^{abcd}
	Mean	15.87±1.24 ^a	64.54±3.99 ^{abcd}	19.57±3.63 ^{cdefg}
Vitamin E	0	16.60±3.24 ^a	63.33±2.22 ^{abc}	20.18±2.24 ^{cdefg}
	1	17.00±3.96 ^a	64.93±4.50 ^{abcd}	17.93±0.90 ^{bc}
	2	14.33±2.21 ^a	62.00±2.38 ^{ab}	23.65±2.70 ^{fg}
	3	14.08±3.22 ^a	71.93±3.24 ^d	13.96±3.56 ^{ab}
	Mean	15.50±1.51 ^a	65.55±4.42 ^{abcd}	18.93±4.06 ^{bcddef}
Selenium + Vitamin E	0	18.58±2.64 ^a	61.00±2.68 ^{ab}	20.40±0.65 ^{cdefg}
	1	14.00±4.27 ^a	66.40±7.29 ^{abcd}	19.60±3.11 ^{cdefg}
	2	15.68±2.27 ^a	62.03±3.97 ^{ab}	22.05±3.23 ^{efg}
	3	17.23±2.06 ^a	66.48±4.40 ^{abcd}	16.23±2.60 ^{abcde}
	Mean	16.37±1.98 ^a	63.98±2.87 ^{abc}	19.57±2.45 ^{cdefg}

^{a,b,c,d,e,f,g} Different superscripts within each column are different (p < 0.05).

¹⁾ F: uncapacitated, acrosome-intact cells.

²⁾ B: capacitated, acrosome-intact cells.

³⁾ AR: capacitated, acrosome-reacted cells.

포유동물의 정상세포는 free radical에 의한 과산화로 인한 손상으로부터 생리적인 체계를 보호하는 생체내 방어기작을 가지고 있으며 체내의 정액에는 superoxide dismutase, glutathione peroxidase(GSH-Px)와 같은 효소방어 체계 뿐만 아니라 taurine, Se 및 Vit. E 등과 같은 free radical의 독성을 중화시키는 작용하는 물질들이 있다²⁰.

항산화제 방어체계의 Se은 대부분 mitochondrial capsule에 함유되어 있으며 capsule내의 단백질과 결합하고 있다. 이 단백질은 세 개의 selenocysteine을 가진 분자량

이 15,000~17,000인 fibrous protein인 mitochondrial capsule selenoprotein으로서 존재하며 특히하게 높은 농도의 proline, cysteine과 낮은 농도의 hydrophobic amino acid를 포함하고 있으며 mitochondria의 세포막 바깥 부분에 위치하고 있어 정상적인 정자형성 과정에 필요한 성분이며²¹ mitochondria의 안정성과 형태유지에 필요하다^{22,23}. 또한 Se는 Vit. E와 상호보완 작용이 있고 tetra-iodothyronine으로부터 tri-iodothyronine로 전환시키는 deiodination을 촉진하는데 필요한 selenoenzyme인 type I iodothyronone

Table 7. Effects of taurine supplements into extender on capacitation and acrosomal exocytosis of frozen/thawed semen in Hanwoo young bulls

Treatment	Taurine (100mM)	F ¹⁾ (%)	B ²⁾ (%)	AR ³⁾ (%)
Control	-	16.86±1.58 ^b	65.63±4.10 ^a	17.47±4.31 ^a
	+	15.50±1.05 ^b	63.80±4.79 ^a	20.56±5.39 ^a
Selenium	-	15.87±1.24 ^b	64.54±3.99 ^a	19.57±3.63 ^a
	+	15.20±1.58 ^b	62.30±1.61 ^a	21.78±1.79 ^a
Vitamin E	-	15.50±1.51 ^b	65.55±4.42 ^a	18.93±4.06 ^a
	+	15.00±1.27 ^{ab}	61.30±4.32 ^a	23.70±5.20 ^a
Selenium + Vitamin E	-	16.37±1.98 ^b	63.98±2.87 ^a	19.57±2.45 ^a
	+	13.13±0.55 ^a	64.31±2.29 ^a	22.07±2.51 ^a
Overall mean	-	16.15±1.52 ^b	64.92±3.55 ^a	18.89±3.41 ^a
	+	14.71±1.42 ^{ab}	62.93±3.38 ^a	22.03±3.80 ^a

^{a,b} Different superscripts within each column are different ($p < 0.05$).

1) F: uncapacitated, acrosome-intact cells.

2) B: capacitated, acrosome-intact cells.

3) AR: capacitated, acrosome-reacted cells.

5-deiodinase의 구성성분인 GSH-Px의 필수 구성성분이다⁴. 세포에서 GSH-Px는 glutathione을 기질로 하여 lipid peroxide를 organic hydroperoxide와 H₂O₂를 H₂O로 변환시켜 free radical 형성을 방지하는 항산화제로 작용하며 정액내에서는 대부분이 부생식선에서 합성되어 free radical의 과산화 작용으로부터 정자를 보호한다^{6,22}.

Vanha-Perttula와 Remes²⁴는 5두의 소에 selenium 투여 시 혈액내 selenium 농도는 투여후 6시간에 극치를 나타낸 후 급격히 감소하고 정액에서는 우선적으로 정장(seminal plasma)내에서 투여후 5일에 극치를 나타내고 12일부터 점차적으로 감소하며 정액내의 총 selenium 농도는 투여후 14일 이후에 증가하여 20일에 극치를 나타내고 40일 후부터 점차로 감소하며 정소상체 두부에 5일 내에 나타나고 정소상체에서 20일 이내에 배설된다고 하였다. 정낭(seminal vesicles)내의 GSH-Px에 작용하고 정자생성 과정에서 정자미부 단백질을 구성하는데 이용된다고 하여 투여후 5-40일동안 남성번식과정에 관여하는 것으로 보고하였다.

웅성에서 Vit. E의 결핍은 정소의 퇴화와 germ cell의 증식과 분화에 유해한 영향을 미쳐 정자생성을 감소시킨다^{25,26}. 본 실험에서 정액량과 총정자수가 시험기간동

안에 하절기 고온 스트레스로 인하여 모든 시험구에서 감소하였다. 정액량은 모든 시험구에서 시험 전보다 감소하는 경향을 나타내었고 Vit. E 투여구에서 시험 전보다 3회 투여 후에 급격히 감소하였고($p < 0.05$), Se과 Vit. E 혼합투여구에서는 감소와 증가를 반복하여 뚜렷한 경향이 나타나지 않았으며 평균 정액량은 대조구, Se 투여구, Vit. E 투여구 및 Se과 Vit. E 혼합투여구에서 시험구간에 커다란 차이가 없었다($p > 0.05$). 정자농도는 Vit. E 투여군만 시험 전보다 점차로 감소하는 경향이 나타났지만 뚜렷하지는 않았으며 평균 정자농도도 대조구 19.2, Se 투여구 18.5, Vit. E 투여구 21.7과 Se과 Vit. E 혼합투여구 17.4억/ml로 시험구간에 뚜렷한 차이가 없었다($p > 0.05$). 총정자수는 대조구와 Se 투여구는 뚜렷한 경향을 보이지 않았지만 Vit. E 투여구에서는 3회 투여후 급격한 감소가 나타났으며($p < 0.05$) Se과 Vit. E 혼합투여구는 2회 투여후 급격히 증가했다가 3회 투여후 급격히 감소하였다($p < 0.05$). 평균 총정자수에 있어 시험구간에 뚜렷한 차이가 없었다($p > 0.05$). Sergerson과 Johnson²⁷은 대조구와 Se 투여구간의 고환, 정소상체 두(頭)부, 체(體)부, 미(尾)부의 정자 생존율과 농도에 있어 차이를 보이지 않았다고 하였으며, Martin-Guzman *et al*²⁸은 Vit. E와

Se이 결핍되면 정자농도와 총정자수를 감소시키며, Vit. E와 Se를 투여하면 정자농도와 총정자수를 회복시키지만 정상적인 농도로 Se이 존재할 때는 Se 투여에 의해 정액내의 Se 농도가 높아지고 GSH-Px 활성이 증가되지만 정액생산과 정자농도에는 영향을 미치지 않는다고 하였다.

포유동물의 세포에서 Vit. E는 이미 생성된 free radical을 포획하여 제거하는 지방 용해성 세포내 항산화제로 작용하며, 정액내에서는 정자의 수정능력을 감소시키는 free radical을 제거하여 정자의 운동성을 증가시키고 정소의 sertoli's cells의 체외배양시 세포의 증식에 영향을 미친다²⁹⁻³¹. 정액과 정자내에 과대하게 free radical이 존재하면 정자 세포막내에 polyunsaturated fatty acid 농도가 증가되며 체내 방어기작을 결핍시켜 정자의 운동성과 정상 형태를 등을 포함한 정자의 특성에 유해한 영향을 미친다^{11,12}. 그리고 정자 형성과정에서 Se의 결핍은 정자의 중편부가 비정상적으로 발달하며 결핍증상이 지속되면 정자의 mitochondrial sheath가 파괴되어 정자의 운동성이 감소하며, 기형율이 증가하고, 생성되는 정자수가 감소한다³²⁻³⁴. 본 실험에서 정자 활력은 Se과 Vit. E 혼합투여구에서만 3회 투여후 증가하였을 뿐(p < 0.05) 다른 시험구에서는 뚜렷한 변화가 없었으며 평균 정자 활력은 Se 투여구가 26.01%로서 대조구 19.20% 보다 높게 나타났고(p < 0.05), Vit. E 투여구 21.79%, Se과 Vit. E 혼합투여구 23.01% 보다도 다소 높은 것으로 나타났다. 생존율은 대조구에서 시험시작후 1~2개월에 감소하였으며(p < 0.05) Se 투여구에서는 2회 투여후에 감소하였고(p < 0.05) Se과 Vit. E 혼합투여구에서는 3회 투여후에 증가하였다(p < 0.05). Se 투여구의 평균 생존율이 47.07%로서 대조구 및 Vit. E 투여구의 35.73, 36.55% 보다 높게 나타나(p < 0.05) Se 투여구가 대조구보다 활력과 생존율에서 높게 나타났고(p < 0.05). 그리고 기형율에 있어서는 모든 시험구에서 시험기간 동안에 뚜렷한 변화를 나타내지 않았고 평균 기형율에 있어서는 대조구, Se 투여구, Vit. E 투여구 및 Se과 Vit. E 혼합투여구에서 각각 21.29, 17.99, 20.03 및 17.75%로 시험기간 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다(p > 0.05).

Taurine은 응성 생식기액에 높은 농도로 존재하면서 정자의 운동성과 수정율을 향상시키는데 햄스터의 정자에서 taurine, hypotaurine은 Na⁺, K⁺-ATPase의 활성을 억제하며 ATP의 이용이나 세포내 Ca²⁺의 이용을 증가시켜

정자의 운동성을 증가시킨다³⁵. 본 실험에서도 정액동결 보존시 희석액에 taurine 첨가 효과는 대조구, Se 투여구, Vit. E 투여구, Se과 Vit. E 혼합투여구 등 모든 시험구에서 무첨가구보다 첨가구가 정자 활력 및 생존율이 높은 경향을 나타내었고, 특히 활력에서는 Vit. E 투여구에서 taurine 첨가시 활력이 높게 나타났으며(p < 0.05), 기형율에 있어서는 대조구, Vit. E 투여구, Se과 Vit. E 혼합투여구 등에서 taurine 첨가구가 무첨가구보다 낮게 나타났으며(p < 0.05) 다른 시험구에서도 taurine 첨가시 기형정자 비율이 감소하는 경향을 나타냈다. 특히 Vit. E 투여구는 taurine 첨가구가 무첨가구보다 활력은 높고 기형율은 낮게 나타나 taurine 첨가 효과가 가장 큰 것으로 나타났다. 평균 활력 및 생존율에 있어 taurine 첨가구와 무첨가구가 각각 22.50와 25.11% 및 39.98과 48.75%로 첨가구가 다소 높게 나타났으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다(p > 0.05). 그러나 평균 기형율에 있어서는 taurine 첨가구가 13.01%로 무첨가구 19.27% 보다 낮게 나타났고(p < 0.05).

소는 정상적으로 superoxide anion과 hydrogen peroxide를 지니고 적정 농도시 superoxide anion은 수정능 획득을, hydrogen peroxide는 침체반응을 유도하지만⁷⁻¹⁰ 높은 농도에서는 정자 세포막의 지질이 과산화되어 정자가 산화적 손상을 입게 된다^{9,36}. CTC 형광염색법을 이용해 정자의 형태학적 수정능력을 검토한 본 실험에서는 대조구, Se 투여구, Vit. E 투여구, Se과 Vit. E 혼합투여구 등 모든 시험구에서 수정능 획득과 침체반응이 모두 일어나지 않은 비율(이하 "F율")은 각각 16.86, 15.87, 15.50 및 16.37%로 나타나 뚜렷한 차이를 나타내지 않았으며(p > 0.05), 수정능 획득은 일어나지만 침체반응은 일어나지 않은 비율(이하 "B율")도 역시 대조구 65.63, Se 투여구 64.54, Vit. E 투여구 65.55 및 Se과 Vit. E 혼합투여구가 63.98%로 차이를 나타내지 않았으며(p > 0.05) F율과 B율과 같이 수정능 획득과 침체반응이 모두 일어난 비율(이하 "AR율")도 모든 투여구간에 차이를 나타내지 않아(p > 0.05), Se 및 Vit. E 투여가 정자의 수정능 획득과 침체반응에 영향을 주지 않은 것으로 나타났다.

Taurine은 적혈구를 제외한 모든 포유동물 세포에서 삼투압 조절과 이온조절에 중요한 역할을 수행하며 자·응성 생식기, 생식기액 및 정자 등에 존재하고 정자의 생존율과 운동율을 유지시켜주며 정자의 수정능 획득과 침체반응에 중요한 역할을 하는데¹³⁻¹⁵ 본 실험에서도 수

정능 획득과 첨체반응에 관한 동결정액 제조시 회석제에 taurine 첨가 효과는 F울에 있어 taurine 첨가구가 무첨가구보다 대조구, Se 투여구, Vit. E 투여구, Se과 Vit. E 혼합투여구 등 모든 시험구에서 다소 낮게 나타나고 특히 Se과 Vit. E 혼합 투여구에서는 taurine 첨가구가 무첨가구보다 낮게 나타났다($p < 0.05$). 모든 시험구의 평균 F울에 있어서도 taurine 첨가구에 비해 무첨가구가 다소 높게 나타났지만 뚜렷한 차이는 나타내지 않았다($p > 0.05$). B울에 있어서도 taurine 무첨가구와 첨가구간의 뚜렷한 차이를 나타내지 않았으며($p > 0.05$) AR울에 있어서는 모든 시험구에 있어 taurine 첨가구가 무첨가구보다 다소 높게 나타나 평균 AR울에 있어서도 taurine 첨가구가 무첨가구에 비해 높게 나타났지만 뚜렷한 차이를 나타내지는 못하였다($p > 0.05$).

본 실험결과에서 한우 종모우에 Se 투여가 정자의 활력과 생존율을 개선하고, 정액의 동결 보존시 회석제에 taurine 첨가가 기형율을 감소시키는 것으로 나타났다.

결 론

한우 후보종모우의 정액생산성을 향상시키기 위해 selenium(Se)과 vitamin E(Vit. E)를 투여하여 생리적 항산화기구를 강화시키고 정액동결 보존시 정액회석제에 taurine을 첨가하여 정액성상을 향상시키고자 실시하였다. 한우 후보종모우 중 20~32개월령 사이의 16두를 대조구, Se 투여구, Vit. E 투여구 및 Se과 Vit. E 혼합투여군 등에 각각 4두씩 완전임의배치법에 의해 할당하여 시험하였다. Se과 Vit. E는 30일 간격으로 3회 근육주사하였다.

정액량, 정자농도 및 총정자수에 있어 대조구, Se 투여구, Vit. E 투여구 및 Se과 Vit. E 혼합투여군 등 모든 시험구간에 뚜렷한 차이가 없었다($p > 0.05$). Se 투여는 정자 활력과 생존율을 향상시켰다. Se 투여구와 대조구의 활력은 각각 26.01%와 19.20%이었다($p < 0.05$). 생존율은 Se 투여구가 47.07%로서 대조구 및 Vit. E 투여구의 35.73, 36.55% 보다 높게 나타났다($p < 0.05$). Se 및 Vit. E 투여가 수정능 획득 및 첨체반응에 뚜렷한 영향을 미치지 못하였다.

정액동결 보존시 회석액에 taurine 첨가에 의해 동결정액 용해후 활력은 Vit. E 투여구에서 높아졌으며($p < 0.05$), 기형율에 있어서도 대조구, Vit. E 투여구, Se과 Vit.

E 혼합투여구 등에서 taurine 첨가구가 무첨가구보다 낮게 나타났다($p < 0.05$).

따라서 한우 종모우에 Se 투여가 정자의 활력과 생존율을 개선하고, 정액의 동결보존시 회석제에 taurine 첨가가 기형율을 낮추는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

1. 이순재, 최원경, 차복경 등. Vitamin E와 Selenium이 Streptozotocin 유발 당뇨쥐의 항산화계에 미치는 영향. 한국영양학회지, 29:22-31, 1996.
2. Adams JJD, Lauerburg BH, Mitchell JR. Plasma glutathione and glutathione disulfid in the rat: Regulation and response to oxidative stress. *J Pharmacol Exp Ther*, 227:749-753, 1983.
3. Patil GS, Cornwell DG. Intergradiol oxidation of α -tocopherol and the surface properties of its oxidation products. *J Lipid Res*, 19:416-422, 1978.
4. Behne D, Kyriakopoulos A, Meinhold H, et al. Identification of type I iodothyronine 5'-deiodinase as a selenoenzyme. *Biochem Biophys Res Commun*, 173: 1143-1149, 1990.
5. Burton GW, Ingold KU. β -Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science*, 224:569-573, 1984.
6. Hafeman DG, Hoekstra WG. Lipid peroxidation *in vivo* during vitamin E and selenium deficiency in the rat as monitored by ethane evolution. *J Nutr*, 107:666-672, 1977.
7. Griveau JF, Renard P, Le Lamnou D. An *in vitro* promoting role for hydrogen peroxide in human sperm capacitation. *Int J Androl*, 17:303-307, 1994.
8. De Lamirande E, Gagnon CA. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: balancing act between beneficial and detrimental effects. *Hum Reprod*, 10: 15-21, 1995.
9. De Lamirande E, Jiang H, Zini A, et al. Reactive oxygen species and sperm physiology. *Reviews of Reproduction*, 2:48-54, 1997.
10. O'Flaherty CM, Beorleugui NB, Beconi MT. Reactive oxygen species requirements for bovine sperm capacitation and acrosome reaction. *Theriogenology*, 52:

- 289-301, 1999.
11. Aitken RJ, Fisher H. Reactive oxygen species generation and human spermatozoa: the balance of benefit and risk. *Bioassays*, 16:259-267, 1994.
 12. MacLeod J. The role of oxygen in the metabolism and motility of human spermatozoa. *Am J Physiol*, 138: 512-518, 1943.
 13. Casslen BG. Free amino acids in human uterine fluid: Possible role of high taurine concentration. *J Reprod Med*, 32:181-184, 1987.
 14. Jacobson IG, Smith LH. Biochemistry and physiology of taurine and taurine derivatives. *Physiol Rev*, 48: 424-511, 1968.
 15. Meizel S, Lui CW, Working PK, *et al.* Taurine and hypotaurine: their effects on motility, capacitation and the acrosome reaction of hamster sperm *in vitro* and their presence in sperm and reproductive tract fluid of several mammals. *Develop Growth Different*, 22:483-494, 1980.
 16. AOAC. *Official methods of analysis*, 15th ed, Association Official Analytical Chemists, Washington, DC, 1990.
 17. Garner DL, Johnson LA, Yue ST, *et al.* Dual DNA staining assessment of bovine sperm viability using SYBR-14 and propidium iodide. *J Androl*, 15:620-629, 1994.
 18. DasGupta S, Mills CL, Fraser LR. Ca²⁺-related changes in the capacitation state of human spermatozoa assessed by a chlortetracycline fluorescence assay. *J Reprod Fertil*, 99:135-143, 1993.
 19. SAS/STAT User's guide (release 6.03 edition) SAS institute Inc, Cary NC USA, 1988.
 20. Suleiman SA, Elamin Ali M, Zaki ZMS, *et al.* Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E. *J Androl*, 17:530-537, 1996.
 21. Pallini V, Bacci E. Bull sperm selenium is bound to a structural protein of mitochondria. *J Submicrosc Cytol*, 11:165-170, 1979.
 22. McConnell KP, Burton RM, Kute T, *et al.* Selenoproteins from rat testis cytosol. *Biochem Biophys Acta*, 588:113-119, 1979.
 23. Calvin HI, Cooper GW, Wallace E. Evidence that selenium in the rat sperm is associated with a cysteine-rich structural protein of the mitochondrial capsule. *Gamete Res*, 4:139-149, 1981.
 24. Vanha-Perttula T, Remes E. Incorporation of selenium-75 into seminal plasma and spermatozoa of the bull. *Andrologia*, 22:34-41, 1990.
 25. Akazawa N, Mikami S, Kimura S. Effects of vitamin E deficiency on the hormone secretion of the pituitary-gonadal axis of the rat. *Tohoku J EXP Med*, 152:221-229, 1987.
 26. Wu ASH, Oldfield JE, Whanger PD, *et al.* Effect of selenium, vitamin E and antioxidants on testicular function in rats. *Biol Reprod*, 8:825-829, 1973.
 27. Segerson EC, Johnson BH. Selenium and reproductive function in yearling Angus bulls. *J Anim Sci*, 51:395-399.
 28. Martin-Guzaman J, Mahan DC, Chung YK, *et al.* Effects of dietary selenium and vitamin E on boar performance and tissue responses, semen quality, and subsequent fertilization rates in mature gilts. *J Anim Sci*, 75:2994-3003, 1997.
 29. Aitken RJ, Clarkson JS. Significance of reactive oxygen species and antioxidants in defining the efficacy of sperm preparation techniques. *J Androl*, 9:367-376, 1988.
 30. De Lamirande E, Gagnon CA. Reactive oxygen species and human spermatozoa. Effects on the motility of intact spermatozoa and on sperm axonemes. *J Androl*, 13:368-378, 1992.
 31. Perez-Infante V, Bardin CW, Gunsalus GL, *et al.* Differential regulation of testicular transferrin and androgen-binding protein in primary cultures of rat Sertoli cells. *Endocrinology*, 118:383-392, 1986.
 32. Brown DG, Burk RF. Selenium retention in tissues and sperm of rats fed a Torula yeast diet. *J Nutr*, 103: 102-108, 1973.
 33. Cooper DR, Kling OR, Carpenter MP. Effect of vitamin E deficiency on serum concentrations of follicle-stimulating hormone and testosterone during testicular maturation and degeneration. *Endocrinology*, 120:83-

- 90, 1987.
34. Wallace E, Calvin HI, Cooper GW. Progressive defects observed in mouse sperm during the course of three generation of selenium deficiency. *Gamete Res*, 4:377-387, 1983.
35. Mrsny RJ, Meizel S. Inhibition of hamster sperm Na^+ , K^+ -ATPase activity by taurine and hypotaurine. *Life Sci*, 36:271-275, 1985.
36. Jones R, Mann T. Lipid peroxidation in spermatozoa. *Proc Royal Soc Lond Biol Sci*, 184:103-107, 1973.
-