



MEDD 315, RTI=

LANDSUDVALGET FOR SVIN



DEN RULLENDE AFPRØVNING

Dato: 30. august 1995

Meddelelse nr: 315

KONCENTRATIONSBESTEMMELSE AF ORNESÆD II

Lisbet Vesterager

SAMMENDRAG

I samarbejde med KS-stationerne blev der i juni 1995 gennemført en afprøvning af et spektrofotometer og en partikeltæller til koncentrationsbestemmelse af ornesæd. Samtidig blev der udarbejdet en ny standardkurve til det hidtil anvendte referencefotometer af typen Corning 252.

51 opsamlinger blev koncentrationsbestemt ved tællinger i et tællekammer i mikroskop. Samtidig blev opsamlingerne målt på Corning 252, spektrofotometret (Uvikon 922) og partikeltælleren (Coulter Counter Z1).

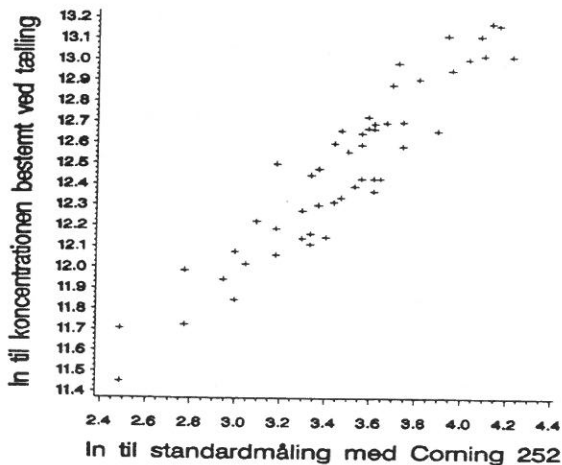
Koncentrationsbestemmelse med Corning 252, Uvikon 922 og Coulter Counter Z1 viste ved sammenligning til koncentrationen bestemt ved tælling, at spredningen på koncentrationsbestemmelsen var mindst med partikeltælleren (Coulter Counter Z1). Forskellen er ikke stor, og da partikeltælleren er den dyreste at anskaffe samtidig med, at den er den mest tidskrævende af de tre metoder, vurderes partikeltælleren ikke umiddelbart at være velegnet til installering på KS-stationerne. Som reference overfor stationsfotometrene kan partikeltælleren eventuelt være velegnet.

Tabel 1. Fortyndingsrække til Corning 252 og Uvikon 922	
Fotometerforlag, ml	Fortynder, ml
1,75	8,25
2,70	7,30
4,00	6,00
6,00	4,00
8,90	1,10

Fra 47 opsamlinger blev der desuden foretaget målinger med en partikeltæller, en Coulter Counter Z1. Målingen blev foretaget ved at blande 10 μ l råsæd i 20,0 ml Isoton indeholdende 0,5 pct. Triton X100. Opløsningen blev placeret i Coulter Counteren, der automatisk sugede $\frac{1}{2}$ ml op til måling. Målingen blev gentaget tre gange på samme fortynding.

RESULTATER OG DISKUSSION

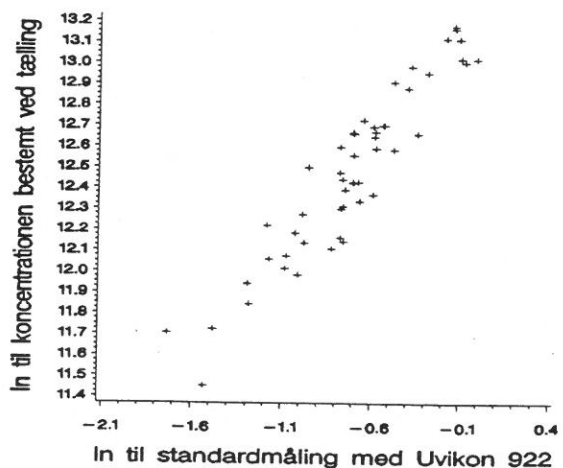
Der blev udtaget prøver fra 51 opsamlinger (fra 47 forskellige orner) med ekstinktionsværdier fra 0,12 til 0,62 (standardaflysning i DS-fotometer).



Figur 1. Koncentrationen bestemt ved tælling sammenholdt med standardmåling (40 x fortynding) med Corning 252.

Tællingen var den eneste direkte metode til koncentrationsbestemmelse og blev derfor sammenlignet med måleresultatet for samme opsamling med henholdsvis Corning 252, Uvikon 922 og Coulter Counter. Resultaterne fremgår af figur 1-3.

Tidligere undersøgelser har vist, at der er en sammenhæng mellem fotometerudslag og koncentration bestemt ved tælling, og at der opnås en lineær sammenhæng ved transformation af måleværdierne med den naturlige logaritme (\ln).



Figur 2. Koncentrationen bestemt ved tælling sammenholdt med standardmåling (40 x fortynding) med Uvikon 922.

Coulter Counter Z1 kræver omhyggelig instruktion og indlæring. Koncentrationsbestemmelse af en del af opsamlingerne er meget tidskrævende på Coulter Counter på grund af, at membranen tilstoppes af gelpartikler. Hver gang membranen tilstoppes vendes væskestrømmen i apparatet, og membranåbningen spules igennem. Dette er som regel tilstrækkeligt til at membranen renses, og en ny måling kan derefter påbegyndes. Det er nemt at foretage gennemskylningen (tryk på "unblock"), men det tager cirka 30 sekunder hver gang. I enkelte tilfælde er tilstopningen så fast, at røret med membranen må afmonteres og renses i destilleret vand. En sådan rensning tager adskillige minutter. Koncentrationsbestemmelse af enkelte opsamlinger må helt opgives på grund af tilstopninger, og det er derfor nødvendigt fortsat at have et fotometer i baghånden til koncentrationsbestemmelse af disse opsamlinger. En koncentrationsbestemmelse helt uden tilstopning af membranen tager cirka 1½ minut, når der udføres dobbelt-bestemmel-

se. I en del opsamlinger tilstoppes membranen enkelte gange, og for hver tilstopning forlænges måletiden som tidligere nævnt med cirka 30 sekunder. Til bestemmelsen anvendes specielle opløsninger, som bevirker, at koncentrationsbestemmelse af en sædopsamling er lidt dyrere på Coulter Counteren end med de to fotometre.

Koncentrationsbestemmelse ved de to fotometermetoder afveg i denne undersøgelse mere fra koncentrationen bestemt ved tælling end partikeltælleren. Det vil sige, at med de tre metoder var spredningen på koncentrationsbestemmelsen mindst med partikeltælleren (Coulter Counter). Forskellen er dog ikke stor, og da partikeltælleren er den dyreste at anskaffe, samtidig med at koncentrationsbestemmelsen er den mest tidskrævende, vurderes partikeltælleren ikke umiddelbart at være velegnet til installering på KS-stationerne. Som reference over for stationsfotometrene kunne partikeltælleren eventuelt være velegnet.

REFERENCER

- Den rullende Afprøvning, Meddelelse nr. 247, 1993. Koncentrationsbestemmelse af ornesæd ved fotometri.
- Den rullende Afprøvning, Meddelelse nr. 302, 1995. Koncentrationsbestemmelse af ornesæd ved DNA-farvning.
- Heiko Paulenz, 1994. Konservering av Rånesæd. Ulike metoder for bestemmelse av spermiekoncentrasjon og studier av spermiemembranens struktur og funksjon, forskningsoppgave for graden doctor scientiarum, Norges Veterinærhøgskole.
- R. Haring, N. den Daas and H. Woelders, 18-21 October 1994. Sperm concentration: What is reality. From European A.I. Vets Sixth Meeting, England.