



20. APRIL

NR. 409

Sammenligning af befrugtningseffektiviteten af ornesæd fortyndet med EDTA og »Zorlesco«, med henblik på udstrækning af sædens anvendelsestid.

Af J. H. Meding

*Statens Husdyrbrugsforsøg, afdeling for forsøg med svin og heste,
Forsøgsstation Hatting*

Der er foretaget en split sample undersøgelse til sammenligning af befrugtningseffektiviteten af »Zorlesco« med den almindeligt anvendte EDTA. Sæden blev anvendt anden til femte dagen efter sædopsamling. Undersøgelsen viste, at der med begge fortyndingsvæsker fremkom et fald i befrugtningseffektiviteten med stigende alder af sæden, og at der med »Zorlesco« ikke kunne påregnes en forbedring af befrugtningseffektiviteten i forhold til den med EDTA opnåede.

Indledning

Forsøg på at udstrække fortyndet ornesæds anvendelsestid udover tre dage uden væsentligt tab i befrugtningseffektivitet har hidtil været resultatløse (Meding (1977), 1978)). I 1979 meddelte Brunel (personlig meddelelse) resultaterne af nogle in vitro undersøgelser, i hvilke ornesæd fortyndet med en ny fortyndingsvæske »Zorlesco« havde kunnet opbevares i op til 13 dage med bibeholdelse af en motilitet, som var betydeligt bedre end ved anvendelse af EDTA (Varohm, Kiev) fortyndingsvæske. På grundlag af disse og egne in vitro undersøgelser iværksattes i maj 1979 et insemineringsforsøg, som skulle vise, hvilke drægtighedsprocenter og kuldstørrelser der kunne opnås med sæd fortyndet med den nye fortyndingsvæske og anvendt 3-6 dage efter sædopsamling. De i denne undersøgelse opnåede resul-

tater, der er indgået i det af Gottardi et al. (1980) publicerede materiale, samt publiceret særskilt, (Meding (1980)), viste, at der med den nye fortyndingsvæske kunne opnås acceptable frugtbarhedsresultater på 3. og 4. dagen, henholdsvis 80,3 og 77,1 procent drægtige og tilsvarende gennemsnitlige kuldstørrelser på 9,6 og 9,7. Resultaterne med sæd anvendt på 5. og 6. dagen viste derimod et betydeligt fald i drægtighedsprocenten. I en tidligere undersøgelse (Meding (1978)) er vist, at der med EDTA-fortyndet sæd anvendt på 3. dagen har kunnet opnås en drægtighedsprocent på 79,9, og med 1-3 dage gammel sæd 82,8.

Som årsag til de forbedrede resultater ved anvendelsen af Zorlesco anfører Gottardi et al. (1980) bl.a. Zorlesco-fortyndingsvæskens lavere osmotiske tryk, højere stødpudeevne, samt indholdet af Tris og bovint serum albumin (B.S.A.).

Foruden disse forskelle i kemisk sammensætning mellem EDTA og Zorlesco adskiller de to fortyndingsvæsker sig også i deres indhold af antibiotika. EDTA indeholder penicillin og streptomycin, Zorlesco neomycinsulfat. Disse antibiotikas virkningsbredde og holdbarhed i opløsning er forskellig, og i en undersøgelse af Meding (1981) fremkom en tendens til forbedring af EDTA-fortyndingsvæskens befrugtningseffektivitet, når der i stedet for penicillin og streptomycin blev anvendt neomycinsulfat som bakterievæksthæmmende middel.

Da en sammenligning af de to fortyndingsvæskers befrugtningseffektivitet med sæd fra samme ejakulat (split-sample) ikke synes at være foretaget, er en sådan undersøgelse gennemført. For at fjerne en evt. forskel i befrugtningseffektivitet, som kunne skyldes anvendelse af forskellige antibiotika i de to fortyndingsvæsker, blev der for begges vedkommende anvendt neomycinsulfat som bakterievæksthæmmende middel.

Materiale og metode

Tre ornestationer deltog i undersøgelsen. I perioden april-juli 1981 blev sæden fra de i forsøget deltagende orner behandlet på følgende måde: Sædopsamling blev foretaget om mandagen efter den sædvanlige procedure for sædopsamling og sædundersøgelse. Den opsamlede sæd blev delt i to halvdele og hensat på et 25–28°C varmt vandbad. Efter nedkøling til denne temperatur initialfortyndedes den ene halvdel med EDTA, den anden halvdel med Zorlesco. De to fortyndingsvæsker havde følgende sammensætning:

EDTA-FORTYNDINGSVÆSKE

Glucose	60,0 g
Natriumcitrat, 2H ₂ O	3,75 g
Natriumedetat	3,70 g
Natriumbikarbonat	1,20 g
Destilleret vand	1000 g
Neomycinsulfat	1,0 g

ZORLESCO-FORTYNDINGSVÆSKE

(Gottardi et al. (1980))

Glucose, vandfrit	11,48 g
Natriumcitrat, 2H ₂ O	11,66 g

Natriumbikarbonat	1,75 g
Natriumedetat	2,36 g
TRIS (hydroxymetylaminometan)	6,50 g
Citronsyre	4,11 g
Cystein	0,08 g
Bovin Serum Albumin (B.S.A.) frakt. V	5,0 g
Destilleret vand	1000 g
Neomycinsulfat	1,0 g

Den fortyndede sæd blev påfyldt enkelt doser à 25 eller 35 ml. Antal motile spermier pr. dosis: $2-2,5 \times 10^9$. Den fortyndede sæd, der blev opbevaret ved 18–20°C, afsendtes samme dag med tog eller rutebil til de i undersøgelsen deltagende tretten inseminører, som anvendte sæden 2., 3., 4. og 5. dagen efter sædopsamling (sædopsamlingsdagen = dag 1). Sæden blev umiddelbart før inseminering på sædvanlig måde færdigfortyndet med IVT fortyndingsvæske til et insemineringsrumfang på 75–80 ml., Med få undtagelser blev hundyrene kun insemineret én gang i brunsten.

Resultater

I tabel 1 er angivet antal 1. insemineringer, procent drægtige, gennemsnitlig kuldstørrelse og antal grise pr. 100 insemineringer på anden til femte dagen efter sædopsamling med de to fortyndingsvæsker. Med EDTA blev udført 1210 1. insemineringer fordelt med 332 på 2. dagen, 351 på 3. dagen, 280 på 4. dagen og 247 på 5. dagen og resulterende i drægtighedsprocenter på 91,6, 89,5, 83,9 og 77,3 og tilsvarende gennemsnitlige kuldstørrelser på 10,6, 10,4, 9,6 og 9,2. Med Zorlesco blev udført 1223 1. insemineringer fordelt med henholdsvis 324, 354, 292 og 253 insemineringer på 2., 3., 4. og 5. dag og resulterende i drægtighedsprocenter på henholdsvis 88,6 87,3, 81,9 og 77,9 og tilsvarende gennemsnitlige kuldstørrelser på 10,7, 10,2, 9,6 og 9,3.

Det ses, at der med begge fortyndingsvæsker er fremkommet et fald i såvel drægtighedsprocent som kuldstørrelse med stigende alder af sæden. Forskellene i drægtighedsprocent mellem de to fortyndingsvæsker med sæd af samme alder er ikke signifikante, men tenderer på 2. til 4. dagen og som helhed mod en lavere frugtbarhed ved anvendelse af Zorlesco.

Tabel 1. Sammenligning af drægtighedsprocenter og kuld størrelser for sæd fortyndet med EDTA + neomycinsulfat og Zorlesco, og anvendt 2.-5. dag efter sædopsamling.

(Comparison of Pregnancy Rate and Litter Size of Boar Semen Diluted with EDTA (Varohm, Kiev) + Neomycin sulphate and Zorlesco, and Used 2.-5. Day after Collection of Semen.)

Fortynder (diluter)	Anvendelsesdag (day of use)																			
	2. dag (2th day)				3. dag (3rd day)				4. dag (4th day)				5. dag (5th day)				Σ			
	ant. i. ins. (no. i. ins.)	% dr. (% pregn.)	gns. kuldstr. (av. litter size)	ant. grise/100 ins. (no. piglets/100 ins.)	ant. i. ins. (no. i. ins.)	% dr. (% pregn.)	gns. kuldstr. (av. litter size)	ant. grise/100 ins. (no. piglets/100 ins.)	ant. i. ins. (no. i. ins.)	% dr. (% pregn.)	gns. kuldstr. (av. litter size)	ant. grise/100 ins. (no. piglets/100 ins.)	ant. i. ins. (no. i. ins.)	% dr. (% pregn.)	gns. kuldstr. (av. litter size)	ant. grise/100 ins. (no. piglets/100 ins.)				
EDTA	332	91,6	10,6	974	351	89,5	10,4	930	280	83,9	9,6	807	247	77,3	9,2	714	1210	86,4	10,1	870
Zorlesco	324	88,6	10,7	946	354	87,3	10,2	887	292	81,9	9,6	787	253	77,9	9,3	720	1223	84,4	10,0	845
Forskel		-3,0				-2,2				-2,0				0,6				-2,0		

Diskussion

Undersøgelsen har vist, at der med den nye fortyndingsvæske, Zorlesco, ikke kan opnås nogen forbedring af hverken drægtighedsprocent eller kuldstørrelse sammenlignet med EDTA. Det synes heller ikke med den nye fortyndingsvæske at være muligt at udstrække sædens anvendelsestid uden tab i befrugtningseffektivitet, således som angivet af Gottardi et al. (1980). For nærværende må EDTA fortyndingsvæsken fortsat anses for den mest velegnede blandt fortyndingsvæsker til ornesæd. Med denne fortyndingsvæske må en anvendelsestid indenfor tre dage efter sædopsamling fortsat anses for at være forsvarelig. Udtrykt i antal grise pr. 100 insemineringer, hvorved der tages hensyn til både drægtighedsprocent og kuldstørrelse, er med sæd på 2. og 3. dag opnået henholdsvis 974 og 930 grise, d. v. s. et fald på 44 grise pr. 100 insemineringer fra anden til tredje dag. Faldet fra tredje til fjerde og femte dag på henholdsvis 123 og 216 grise pr. 100 insemineringer er derimod af en størrelsesorden, som ikke under normale omstændigheder vil kunne accepteres af svineproducenterne.

Såvel denne som tidligere lignende undersøgelser (Meding (1977, 1980, 1981)) har ikke omfattet insemineringer med sæd fra opsamlingsdagen. Dette skyldes dels forsøgstekniske grunde, dels det forhold, at størstedelen af sæden tidligst anvendes dagen efter sædopsamlingsdagen. I en

tidligere undersøgelse fandt Meding (1978) ingen forskel i frugtbarheden mellem sæd anvendt på opsamlingsdagen og den følgende dag, og på 3. dagen er i såvel herværende som ovenanførte undersøgelser opnået resultater med et så beskedent fald i befrugtningseffektivitet, at det fortsat må kunne accepteres af svineproducenterne.

Inseminører og ornestationer, som har deltaget i undersøgelsen, bringes herved min bedste tak for interesseret, værdifuld og effektiv medvirken.

Litteratur

- Gottardi, L., L. Brunel & L. Zanelli, 1980. New Dilution Media for Artificial Insemination in Pig. 9th Int. Congr. Anim. Reprod. and Artific. Insem. Madrid. (Summary page 275).
- Meding, J. H., 1977. Anvendelse af SCK-7 fortyndingsvæske til ornesæd med henblik på udstrækning af sædens anvendelsestid i indtil 6 dage. Medd. 202, Statens Husdyrbrugsforsøg.
- Meding, J. H., 1978. Sammenligning af drægtighedsprocenter og kuldstørrelser ved anvendelse af to spermimængder pr. insemineringsdosis. Medd. 245, Statens Husdyrbrugsforsøg.
- Meding, J. H., 1980. Anvendelse af en ny fortyndingsvæske »Zorlesco« til ornesæd med henblik på udstrækning af sædens anvendelsestid. Medd. 304, Statens Husdyrbrugsforsøg.
- Meding, J. H., 1981. Sammenligning af befrugtningseffektiviteten af ornesæd fortyndet med EDTA (Kiev, Varohm) tilsat penicillin+streptomycin eller neomycinsulfat. Medd. 392, Statens Husdyrbrugsforsøg.