

# Referate

---

*Opsomnings van die referate gelewer tydens die Afdeling Biologie van die Suid-Afrikaanse Akademie vir Wetenskap en Kuns se jaarkongres, 19 Junie 1996, Universiteit van Pretoria.*

## Die verband tussen zona pellucida(ZP)-afmetings en sekere geassisteerde bevrugtingsparameters tydens die behandeling van pasiënte

A. du Plessis\*, F. le R. Fourie, C. Huyser en D.S. Visser

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Departement Obstetrie en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

J. Coetzee

Eenheid vir Elektronmikroskopie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

### Inleiding

Verskeie navorsers beweer dat 'n verdikte ZP moontlik 'n negatiewe invloed op bevrugting, blastosistuitbreking, implantaasie van die embryo en sodoende swangerskapsuitkoms het.

### Doelstelling

Om te bepaal of 'n verband tussen ZP-dikte en sekere geassisteerde bevrugtingsparameters bestaan.

### Materiaal en metode

Die studiegroep bestaan uit 75 pasiënte wat deelgeneem het aan die *in vitro*-bevrugtingsprogram. 'n Totaal van 270 oösiete is herwin, waarvan 74,8% verdeel het. Embrio's ( $\geq 2$  sel) is op VHS-videoband vasgelê en 'n beeldanaliseerder (Macintosh-Adobe Photoshop) is gebruik om die ZP-dikte op vier loki te bepaal. 'n Korrelasie tussen die basale FSH-waarde en die ZP-dikte van 20 pasiënte is gedoen. 'n Korrelasie tussen die embriodeursnee en die ZP-dikte van die embryo's per pasiënt is ook bepaal. Die ZP-diktes van die pasiënte op grond van ras en ouderdom asook die embrioselstadium is statisties vergelyk.

### Resultate

Die ZP-diktes varieer van 11,37  $\mu\text{m}$  tot 24,37  $\mu\text{m}$  met 'n gemiddeld van 18,06  $\mu\text{m}$ . Daar is 'n verband tussen die basale FSH(follikel-stimulerende hormoon)-waardes en gemiddelde ZP-dikte per pasiënt gevind. Op grond van hierdie verband is twee groepe pasiënte geïdentifiseer, waarvan die basale FSH-waardes en gemiddelde ZP-dikte betekenisvol verskil het ( $p=0,0003$  en  $p=0,0175$  onderskeidelik). Die eerste groep het 'n gemiddelde ZP-dikte van 18,65  $\mu\text{m}$  en 'n gemiddelde basale FSH-waarde van 12,214 IE/L, terwyl die tweede groep 'n gemiddelde ZP-dikte van 17,04  $\mu\text{m}$ , met 'n gemiddelde basale FSH-waarde van 6,254 IE/L het. 'n Korrelasie tussen die gemiddelde deursnee van embryo's en die gemiddelde ZP-dikte per pasiënt is ook gevind ( $r=0,688$ ;  $p=0,000001$ ). Daar kon egter geen statisties betekenisvolle verband tussen ras, ouderdom, selstadium en ZP-dikte geïllustreer word nie.

### Gevolgtrekking

Twee groepe embryo's kan onderskei word op grond van FSH-waardes. 'n Direkte verband is gevind tussen die dikte van die ZP en die basale FSH-waarde van 'n pasiënt. Aspekte soos ras, ouderdom en embrioselstadium toon geen korrelasie met die dikte van die ZP nie.

\*Aanbieder

## Dag-nag-variase in semenparameters en sekere biochemiese substansie in menslike semen

D. du Toit\*, M.S. Bornman, N.H. Aneek-Hahn en M.J. Pitout

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Departement Urologie en Departement Fisiologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

### Inleiding

Seisoenale variase kom in sommige semenparameters van mense voor. Geen data is in die literatuur beskikbaar oor dag-nag-variase van semenparameters nie. Sialiensuur (SA) op die

selmembraan dra by tot die maskering van antigeniese bindingssetels en die konfigurasie van reseptore. SA word van die sialoproteïne of glikolipied op die sperm membraan deur sialidase verwijder. Lae spermgebonde SA word geassosieer met

\*Aanbieder

lae sperm-ATP-konsentrasies en goeie spermmotiliteit. Fruktolise word deur sperme gebruik om energie vir spermmotiliteit te genereer. Pirovaat kan vir energie gebruik word om ATP via fruktolise te genereer.

#### **Doel**

Om die sialidase-aktiwiteit, vry, gebonde, totale [SA] en [pirovaat] in sperme en in die seminale plasma van dag- en nagsemenmonsters te bepaal.

#### **Pasiënte en metodes**

Die studiegroep het bestaan uit 20 gesonde volwasse mans tussen 18 en 22 jaar. Twee semenmonsters is versamel, na 'n onthoudingsperiode van drie dae van enige seksuele aktiwiteit. Die monsters is om  $\pm 12:00$  gedurende die dag en  $\pm 24:00$  gedurende die nag gekollekteer. Volledige semenanalyses is uitgevoer volgens metodes en standaarde van die WGO. Daarna is sperme en seminale plasma bevries vir die bepaling van sialidase-aktiwiteit, vry-, gebonde en totale [SA] en pirovaatkonsentrasie. Die sialidase-aktiwiteit en die verskillende SA- en pirovaat-

konsentrasies van sperme en in die seminale plasma is statisties verwerk deur middel van die Wilcoxon gepaarde rangsomtoets.

#### **Resultate**

In die nagmonsters was die spermdigtheid en -persentasie "b" differensiële motiliteit statisties betekenisvol hoër ( $p = 0,0079$  en  $p = 0,0441$  respektiewelik) terwyl die vry-, spermgebonden [SA] betekenisvol laer was ( $p = 0,05$ ) as in die dagmonsters. Die endogene [pirovaat] ( $12:00 : 62,9 \pm 90,3 \mu\text{g}/10^6 \text{sperm}$ ;  $24:00 : 45,2 \pm 45,8 \mu\text{g}/10^6 \text{sperm}$ ) en die seminale plasma-sialidase-aktiwiteit ( $12:00 : 1,92 \pm 1,6 \text{ mU}/10^6 \text{sperm}$ ;  $24:00 : 4,74 \pm 9,1 \text{ mU}/10^6 \text{sperm}$ ) het nie betekenisvol verskil nie.

#### **Gevolgtrekkings**

Die bevinding dat die spermdigtheid en progressiewe motiliteit hoër in die nag was as in die dag, mag moontlik 'n aanduiding wees dat semenkwaliteit ook beter mag wees. Die laer spermgebonden [SA] en goeie spermmotiliteit in hierdie studie het ons vorige observasie bevestig dat goeie progressiewe spermmotiliteit geassosieer word met lae spermgebonden [SA].

## **Epididimale merkers in die andrologiekliniek**

M.H. Fourie\*, M.S. Bornman en D. du Toit

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Departement Uroologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

L. Wolmarans

Instituut vir Biostatistiek, Mediese Navorsingsraad, Pretoria, 0002

#### **Probleemstelling**

Drie epididimale merkers is voorgestel vir die differensiële diagnose van asoëspermie:  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit en karnitien- of glicerofosfocholiën-konsentrasies.  $\alpha$ -glukosidase was die merker van keuse;  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit  $> 26,7 \text{ mU}/\text{ejakulaat}$  is 'n merker van epididimale deurganklikheid. Gedurende epididimale deurgang ontwikkel sperme die vermoë tot voorwaartse beweging, terwyl die ATP-konsentrasie van sperme daal.  $\alpha$ -glukosidase mag in die epididimis energie vir die ontwikkeling van motiliteit voorsien. Die standaardmetode vir die bepaling van  $\alpha$ -glukosidase is die epididimisspesifieke metode wat slegs die neutrale iso-ensiem bepaal. Die EpiScreen kitsmetode meet beide die suur (niespesifieke) en neutrale iso-ensieme. Die doel was om die intrapasiëntvariasie van  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit te ondersoek, om die invloed van die tydsverloop tussen likwifisering en bevriesing van die seminale plasma op die aktiwiteit te bepaal, om die epididimisspesifieke metode te vergelyk met die EpiScreen kitsmetode en om die verband tussen  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit en differensiële spermmotiliteit te bepaal en ook die onderlinge verwantskap met ATP.

#### **Metode**

Vir die intrapasiëntvariasie is die  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit van 42 pasiënte met opeenvolgende besoeke (gemiddeld 8 weke uit mekaar) vergelyk. Die invloed van tydsverloop voor bevriesing is bepaal deur likwifiseerde ejakulate in twee dele te verdeel; seminale plasma van die eerste deel is dadelik bevries en die tweede deel is 60 minute later bevries. Die  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit is vergelyk. Die persentasies korrekte klassifikasies van 23 postvasektomiemonsters as komende van obstruktiewe epidemi-

dimis en die gamete neutrale aktiwiteit is vergelyk vir die epididimisspesifieke en die EpiScreen kitsmetode. Vir die motiliteitstudie is differensiële spermmotiliteit en  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit in 137 semenmonsters bepaal. Vir die verband tussen ATP,  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit en spermmotiliteit was al drie hierdie parameters in die ejakulaat van 17 pasiënte bepaal.

#### **Beknopte resultate**

Die gemiddelde aktiwiteite met die eerste en tweede besoek het nie statisties betekenisvol verskil nie. Geen statisties betekenisvolle verskille in  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit is waargeneem wanneer een uur speling voor monsterversameling toegelaat is nie. Die persentasies korrekte klassifikasies van die postvasektomie-pasiënte deur gebruik van die epididimisspesifieke en die EpiScreen metode afsonderlik was in beide gevalle 100%. Daar was 'n statisties betekenisvolle verskil tussen die neutrale aktiwiteit van die twee metodes. Statisties betekenisvolle positiewe korrelasies is gevind tussen die  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit en die kategorie B differensiële motiliteit, maar die korrelasies was redelik swak ( $r=0,187, p=0,033$ ). ROC-analise gee die afsnypunt vir  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit met optimale sensitiviteit en spesifisiteit as  $26,8 \text{ mU}/\text{ejakulaat}$ ; monsters met goeie progressiewe motiliteit het  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit  $> 26,8 \text{ mU}/\text{ejakulaat}$ . Beduidende persentasies vals positiewe en vals negatiewe klassifikasies sal egter voorkom. Die ATP-konsentrasie van sperme was negatief gekorreleer met spermmotiliteit en  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit.

#### **Gevolgtrekking**

Die bepalings van slegs een monster per pasiënt is voldoende, mits volledige monsters versamel word en bepalings herhaal

word vir asoöspermiese gevalle met onverwags hoë  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit. Een uur tydspeling kan toegeelaat word voordat 'n seminaleplasmamonster vir  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteitsbepaling versamel word. Verskille in die neutrale  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit volgens die epididimisspesifieke metode bepaal en die EpiScreen kitsmetode mag te wye wees aan die niespesifieke bydrae van die suur-iso-ensiem en aan 'n verlies aan sensitwiteit vir die EpiScreen metode by die baie lae konsentrasiewaardes. Die diskriminatiewe waarde van die EpiScreen kitsmetode is

nie beïnvloed nie; die EpiScreen kitsmetode is ideaal vir roetine diagnostiese laboratoriums en die epididimisspesifieke metode vir navorsingslaboratoriums.  $\alpha$ -glukosidase het 'n swak positiewe invloed op spermmotiliteit en is 'n aanduiding van epididimale funksie op sigself. Hoë spermotiliteit is ook geassosieer met lae ATP-konsentrasies van sperme. 'n Kombinasie van hoë  $\alpha$ -glukosidase-aktiwiteit en lae ATP-konsentrasies van sperme behoort dus 'n goeie aanduiding van effektiewe epididimale funksie te wees.

## Die invloed van menslike serums, follikulêre vogte en seminale plasma op die spermbindingsvermoë aan menslike zona pellucidae

C. Huyser\*, F. le R. Fourie en H. Moolman

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Departement Obstetricie en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

### Inleiding

Hegte binding van menslike spermatoea aan die buitenste oppervlakte van die menslike zona pellucida is 'n kritieke gebeurtenis gedurende bevrugting. Die hemizonatoets (HZT) is 'n gekontroleerde biobepaling, waar nielewensvatbare oösiete in twee identiese zonahelftes gehalte word. Die HZT is gedurende hierdie studie aangepas om die invloed van verskillende proteiensupplemente op spermbinding (toetszonahelftes versus kontrolezonahelftes) te evalueer.

### Doelstellings

(i) Om die invloed van vroulike, manlike en fetalekoord-serum, follikulêre vog (FV) en seminaleplasma(SP)-konsentrasies op spermzona-pellucidabinding (SZB) sowel as die hemizonaindeks(HZI) vas te stel, deur gebruikmaking van die hemizonatoets. (ii) Om steroïed-, gonadotropien-, groeihiormoon- en prolaktienkonsentrasies in FV en serums te bepaal.

### Metodes

Menslike ovaria, verkry vanaf kadawers, is geaspireer vir zonaintakte oösiete. Earl se gebalanseerde soutoplossing gesupplementeer met geïnaktiveerde ( $56^{\circ}\text{C}$  vir 30 min.) serum sowel as follikulêre vog (FV), is vir spermprosessering en spermzona-inkubasic gebruik. Serum verkry op die derde dag (D3VDS) van vroulike donors se menstruele sirklus is as kontrole gebruik. Die volgende suplemente is getoets:

(i) Serum van 'n ongestimuleerde vroulike donor op dag 12 van haar menstruele sirklus (D12VDS - 10%). (ii) Serum van *in vitro*-bevrugtingpasiënte op dag 12 (D12IVBS - 10%). (iii)

Manlikedonor-serum (MS - 10%). (iv) Fetalekoord-serum (KFoS - 10%). (v) Drie verskillende FV-monsters (10% en 50%). (vi) Drie verskillende SP\*-monsters (1 en 10%). Die steroïedinhoud van die proteiensupplemente is m.b.v. DELFIA bepaal.

### Resultate

**Serumsupplementasie:** In vergelyking met D3VDS (kontrole) het MS en FKS spermzona-pellucidabinding gestimuleer ( $p < 0,028$ ), terwyl byvoeging van D12IVBS nie spermbinding beïnvloed het nie ( $p = 0,7523$ ) en D12VDS het binding geïnhibeer ( $p = 0,0179$ ).

**Follikulêrevog-supplementasie:** Supplementasie met 10% FV het deurgaans betekenisvolle hoër SZB tot gevolg gehad ( $p < 0,02$ ), terwyl variërende resultate met 50% FV-supplementasie verkry is. 50% FV-supplementasie met poel 1, wat die hoogste progesteronkonsentrasie bevat het, het die beste HZI ( $\bar{x} = 373,9 \pm 47,3$ ) in vergelyking met 'n 10%-byvoeging ( $\bar{x} = 262,0 \pm 32,1$ ;  $p = 0,0300$ ) getoon.

**Seminaleplasma-supplementasie:** Sperm-ZP-bindingsprofiel gedurende ko-inkubasie met 1% SP dui op variërende resultate, terwyl 'n tendens van laer SZB gevind is met 'n 10%-SP-byvoeging.

### Gevolgtrekkings

(i) Suplementering van kultuurmedium met FV en MS verhoog SZB in vergelyking met D3VDS. (ii) Die toepaslike gebruik van 10% FV as 'n natuurlike fisiologiese stimulant om SZB te verhoog, word aanbeveel. (iii) Die teenwoordigheid van SP in die omgewing van die oösiet moet vermy word gedurende menslike geassisteerde reproduksie.

\*Aanbieder

\*Byvoeging slegs in die spermzona-inkuberingsmedium.

# Die hamsterspermmotiliteitstoets: 'n sensitiewe toets vir endotoksiene?

A. Koch\*, C. Huyser en F. le R. Fourie

Centrum vir Fertiliteitstudies, Reproductiewe Biologic Laboratorium, Pretoria, 0002

J. Makin

Departement Obstetric en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

## Inleiding

Streng kwaliteitskontrole is van uiterste belang tydens 'n menslike *in vitro*-bevrugtings(IVB)-program. Een van die faktore waarteen daar gewaak moet word, is die teenwoordigheid van endotoksiene. Endotoksienkontaminasie kan lei tot verhoogde sitoplasmiese fragmentasie van embrio's met 'n gevolglike verflaging in die swangerskapskoers. Aanduidings bestaan dat die konvensionele muis-eensel- en -tweesel-embriotoets nie sensitief genoeg is om subtile embriotoksiese kontaminasie aan te dui nie. Die vermoë van die hamsterspermmotiliteitstoets om die teenwoordigheid van lae konsentrasies endotoksiene aan te dui, is ondersoek.

## Materiaal en metode

Kweekmedium (Earle se gebalanseerde soutoplossing) is gesupplementeer met verskillende endotoksienkonsentrasies (0,1 ng/ml; 0,01 ng/ml; 0,005 ng/ml; 0,001 ng/ml). Kweekmedium sonder endotoksiene is as kontrole gebruik. Epididimale

hamstersperme is by elk van die verskillende media gevoeg en die aanvanklike motiliteit is mikroskopies bepaal. Die sperme is vervolgens vir 6 ure by 37 °C en 5% CO<sub>2</sub> in lug geinkubeer, waarna die spermmotiliteit weer bepaal is.

## Resultate

Na blootstelling aan verskillende endotoksienkonsentrasies vir 6 ure is daar 'n statisties betekenisvolle afname in die motiliteit tussen die kontrole en elk van die endotoksienkonsentrasies waargeneem. 'n Statisties betekenisvolle omgekeerde liniëre verband ( $p<10^{-6}$ ) is tussen endotoksienkonsentrasie en spermmotiliteit verkry.

## Gevolgtrekking

Die hamsterspermmotiliteitstoets is sensitief genoeg om endotoksienvlakke wat baie laer as die aanvaarbare vlak van 0,1 ng/ml is, waar te neem. Hierdie toets word aanbeveel as addisionele kwaliteitskontroletoets tydens menslike *in vitro*-bevrugting.

\*Aanbieder

# Het die veranderinge in die Nhlabane-estuarium die populasie van *Mugilicola smithae* beïnvloed

W. Kruger\* en A. Avenant-Oldewage

Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Posbus 524, Aucklandpark, 2006

Die afgelope paar jaar is heelwat aandag geskenk aan die varswatersisteme van ons land. Daar is veral gekyk na die invloed wat toenemende produksie van afvalprodukte en die bioakkumulering van verskeie metale op hierdie sisteme het. Watersisteme kan egter ook ander natuurlike of mensgemaakte veranderinge ondergaan. 'n Voorbeeld van so 'n verandering kom voor by die Nhlabane-estuarium in KwaZulu-Natal. Hierdie watersisteem was vir 'n aantal jare van die Indiese Oseaan afgesluit, en was gevvolglik stelselmatig besig om te ontsout, maar is onlangs weer met die see verbind. Die verbintenis van hierdie twee sisteme het tot gevolg gehad dat sowel die fisiese as biologiese eienskappe van die water verander het.

Die verbintenis van die semi-saliene estuarium met die saliene seewater het tot gevolg gehad dat die algehele salinitet van die estuarium verhoog het. 'n Groot aantal visspesies het sedert die heropening die estuarium binnegekom, wat dus die verskeidenheid van die estuarium se visspesies verander het.

Vier harderspesies, naamlik *Liza alata*, *Liza macrolepis*, *Myxus capensis* en *Valamugil sebæli* is in die estuarium versamel en al vier hierdie spesies was besmet met *Mugilicola smithae*. *Mugilicola smithae* is 'n visiektoparasiet en die enigste verteenwoordiger van hierdie genus wat tot dusver in Suid-Afrika gevind is.

Harders is bekend daarvoor dat hulle in estuariums grootword

en die oopmaak van die sisteem het meegebring dat groot hoeveelhede klein hardertjies die sisteem binnegekom het. Hierdie harders sal waarskynlik in die sisteem grootword en met *M. smithae* besmet word. Die wyfies van *M. smithae* is sessiel en dus vir voedsel op die harders aangewes. Die gemiddelde besmettingsintensiteit van hierdie parasiete het egter nie na die oopmaak van die estuarium verander nie.

Die samestelling van die plantegroei het ook verander deurdat nuwe spesies hulself begin vestig het terwyl ander begin verdwyn het; sekere ekologiese faktore is hierdeur beïnvloed, soos byvoorbeeld die turbiditeit, watertemperatuur, ekologiese nisse asook die beskikbaarheid van harders. Die plantegroei van die estuarium het in die verlede genoegsame skuilplek vir die harders voorsien en was dikwels van so aard dat die versameling van harders bemoeilik is as gevolg van ontoeganklikheid. Met die see wat in die sisteem invloei, het groot hoeveelhede van die plantegroei (veral riete) reeds begin afsterf. Toeganklikheid met bote word dus vergemaklik sodat meer gashere versamel kan word.

Toekomstige monitering van hierdie sisteem sal meer inligting verskaf omtrent gashere, spesiesamestelling en die gevolglike veranderinge op die besmetting deur *M. smithae*.

\*Aanbieder

# Die bepaling van bloedgekontamineerde menslike follikulêre vog deur middel van verskillende metodes

P.F. Levay\*, C. Huyser, F. le R. Fourie en D. Rossouw

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Departement Obstetric en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

M. Viljoen

Departement Fisiologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

## Doelstelling

Om 'n vinnige, doeltreffende en betroubare metode vir die bepaling van bloedgekontamineerde menslike follikulêre vog (FV) te identifiseer wat in 'n kliniese omgewing gebruik kan word.

## Metodes

Follikulêre vog ( $n = 339$ ) en plasma ( $n = 20$ ) van pasiënte ( $n = 138$ ) van die Sentrum vir Fertiliteitstudies, H.F. Verwoerd Hospitaal, is versamel. Bloedgekontamineerde FV is geëvalueer deur (a) visuele voorkoms, (b) hematokritbepaling, (c) spektrofotometriese analise, (d) spektrofotometriese hemoglobienbepaling en (e) Combur-9-ureontoetsstrokkies.

## Resultate

(1) Hematokrit en spektrofotometrie op sigself was nie betrouw-

baar vir die identifisering van bloedgekontamineerde vogte nie.

(2) Bloedgekontamineerde vogte kon beter geïdentifiseer word op grond van visuele evaluering as deur hematokrit- of spektrofotometriese bepalings. (3) Die Combur-9-ureontoets het tot 50% van die bloedgekontamineerde vogte as skoon uitgewys. (4) Hemoglobienbepalings kan nie tussen skoon en bloedgekontamineerde FV onderskei nie. (5) Follikulêre vog met 'n absorbansie van 458 nm kan die piek wat bloed by 'n absorbansie van 418 nm vertoon, verskans.

## Gevolgtrekkings

Visuele voorkoms soos uitgevoer in die studie verskaaf 'n vinnige, doeltreffende en betroubare metode vir die bepaling van bloedgekontamineerde menslike FV wat in 'n kliniese omgewing gebruik kan word.

# Opsommende verslag van die eerste ISSI-prosedures uitgevoer by die Universiteit van Pretoria

C.J. Meintjes\*, J.E. Meintjes, F. le R. Fourie en J. Pentz

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

D.J. du Plessis en M.S. Bornman

Departement Urologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

M. Nijs

SIMAF, België

## Doelstellings

Om die intrasitolamiese sperminspuitingsmetode (ISSI-metode) by die Departement Obstetric en Ginekologie, Universiteit van Pretoria en die H.F. Verwoerd Hospitaal te vestig. Die mikpunt was om bevrugting en swangerskap te bewerkstellig by pasiënte waar infertiliteit veroorsaak word deur ergé manlike faktore en/ of waar daar herhaaldelik na *in vitro*-bevrugtingsbehandeling min of geen bevrugting plaasgevind het nie.

## Metodes

Na superovulasie is oösiete transvaginaal met ultraklank-begeleiding herwin. Hialuronidase is gebruik om die kumulus te verwyder. ISSI is op alle metafase II-oösiete uitgevoer.

Die volgende groep is onderskei: A. Egpare waar 'n kombinasie van een of meer van die volgende toestande by die

man voorkom: oligo-, terato-, astenosooöspermie en gemengde antiglobulienreaksie ( $n=29$ ); B. Pasiënte waar herhaaldelike lae ( $\leq 25\%$ ) of geen bevrugting in vorige onsuksesvolle behandelings voorgekom het nie ( $n=13$ ); C. Sperme is uit die epididimis van die man bekom ( $n=5$ ); D. Sperme is uit 'n testisbiopsie verkry ( $n=4$ ); E. Elektro-ejakulasie van mans wat 'n spinale besering het ( $n=4$ ); F. Donorsperme is gebruik ( $n=2$ ); G. Totale globosoöspermie kom voor ( $n=2$ ).

## Resultate

Nege-en-vyftig pasiënte is geaspireer en 568 oösiete gevind. Hiervan was 12 pseudo-oösiete, 22 leë zona pellucidae, twee reeds gesfragmenteer of verdeel tydens herwinning en 16 is tydens die ISSI-prosedure beskadig of verlore. Verder het 35 oösiete geriminale vesikels gehad en 125 oösiete was in die

metafase I-stadium. Nadat ISSI op 66 metafase I-oösiete en 356 metafase II-oösiete uitgevoer is, is onderskeidelik by 27,3% en 51,4% normale bevrugting genoteer. Abnormale bevrugting het by 10,7% onryp en 7% ryp oösiete voorgekom. By die pasiënt met globosoöspermie is geen bevrugting genoteer nie. Die verdelingsyfer was deurgaans hoër as die bevrugtingsyfer, wat dui op partenogenetiese verdeling of pronuklei wat nie waargeneem is nie.

Nege pasiënte was swanger (15,3%) waarvan vier reeds geboorte geskenk het en vier aangaande swanger is. Swanger-

skappe het by pasiënte in groep A (n=6), B (n=2) en D (n=1) voorgekom. Een pasiënt uit groep A verwag 'n tweeling.

#### Gevolgtrekkings

Die ISSI-prosedure is suksesvol by die Universiteit van Pretoria gevestig. Bemoedigende bevrugtings- en swangerskapsyfers is genoteer. Pasiëntgroepe waar geen swangerskappe voorgekom het nie, kan moontlik aan lae pasiëntgetalle, swak embriokwaliteit en verskillende reaksies op stimulasie toegeskryf word.

\*Aanbieder

## Die gebruik van hepatiese veranderlikes as biologiese indikatore van stres in 'n akwatiese omgewing

I. Nortje\* en J.H.J. van Vuren

Navorsingseenheid vir Akwatiese en Terrestriële Ekosisteme, Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Posbus 524, Aucklandpark, 2006

Omgewingsbesoedeling deur menslike aktiwiteite soos mynbou en landbou kan die oorsaak wees van fisiologiese veranderinge in individuele visse. Hierdie veranderinge mag die immuniteit van die vis inhibeer, wat tot gevolg sal hê dat die vis meer vatbaar is vir ander faktore wat stres veroorsaak. Dievlak van besoedeling mag dus nie dodelik/letal wees nie, maar dit verhoog die vatbaarheid vir ander siektes en dit verlaag die reproduktiewe sukses van die vis. Riglyne vir aanvaarbare vlakke van besoedeling word gewoonlik gebaseer op mortaliteit. In hierdie studie word verskeie fisiologiese veranderlikes ondersoek as moontlike biologiese indikatoren van stres as gevolg van die omgewing. Probleme in die omgewing moet geïdentifiseer word deur biologiese indikatoren alvorens die gesondheid van akwatiese organismes ernstig benadeel word. Aangesien die lewer die hoof detoksifiseringsorgaan in die liggaam is, kan hepatiese veranderlikes dien as waardevolle biologiese indikatoren.

Hepatiese veranderlikes is bepaal na blootstelling aan subletale konsentrasies koper en sink onderskeidelik. Die blootstellings is gedoen by 'n pH van 5,0-5,2. Die pH is aangepas deur byvoeging van 1%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Koper is toegedien as  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , MW=170,48, en sink is toegedien as  $\text{ZnCl}_2$ , MW=136,28. Blootstellings is gedoen in 'n deurvloeiysteem met boorgatwater van bekende kwaliteit. Na 96 uur van blootstelling is die helfte van die visse geslag en hepatiese veranderlikes is bepaal. Die ander helfte is oorgedra na boorgatwater met 'n pH van 5,0-5,2; na 'n herstelperiode van 96 uur is dié visse ook geslag en die hepatiese veranderlikes bepaal.

\*Aanbieder

Verskille in die waardes van veranderlikes is gemeet teen kontrolewaardes. Die waardes van die blootgestelde groepes is ook vergelyk met die waardes van die herstelgroepe. Daar is gevind dat die vlakke van pirovaatkinase merkbaar verhoog het na blootstelling van 96 uur aan beide koper en sink, in vergelyking met die kontrolewaardes. Die waardes van die blootgestelde groepes was ook hoër as die van die herstelgroepe, alhoewel die waardes van die herstelgroepe steeds hoër was as die van die kontrolegroep. Glukose-6-fosfaat-dehidrogenase-waardes was laer in die blootgestelde groepes as in die herstelgroepe, alhoewel albei hoër was as die kontrolewaardes. Hierdie waardes is by koper- en sinkblootstellings waargeneem. Glukosevlakte in die lewer het afgeneem na blootstelling aan koper en sink, en alhoewel die vlakke van die herstelgroepe hoër was as die van die blootstellingsgroepe was dit nog steeds laer as die kontrolegroep s'n. Cholesterolwaardes was baie wisselvallig en geen nut as biologiese indikator van koper- en sinkblootstelling is daarvoor gevind nie.

It is duidelik uit hierdie waardes dat die chemiese samestellings van water 'n fisiologiese impak op *Oreochromis mossambicus* het. Indien die akwatiese organismes nie by hierdie veranderinge kan aanpas nie, kan die teenwoordigheid van koper en sink baie nadelige gevolge vir hulle hê. Die studie wys ook dat alhoewel die visse herstel as die toksiese stowwe verwyder word, dit nie 'n onmiddellike herstel is nie. Verdere ondersoek kan gerig wees op die verfyning van tegnieke vir die spoedige bepaling van die impak van metaalbesoedeling op die lewer.

# Die effek van koper en sink op die hematologie van die bloukurper *Oreochromis mossambicus*

G. Nussey\* en J.H.J. van Vuren

Navorsingseenheid vir Akwatiese en Terrestriële Ekosisteme, Departement Dierkunde, Randse Afrikaanse Universiteit, Posbus 524, Aucklandpark, 2006

Die vernietigende invloed op die akwatiese omgewing deur die mens is in die vorm van subletale besoedeling, wat toestande van chroniese spanning skep. Die toename in vatbaarheid vir siektes en 'n verlaging in die reproduktiewe sukses van die natuurlike habitat van akwatiese organismes kan daarvan toegeskryf word. Omdat die vis in direkte kontak met sy omgewing is, sal enige verandering in die omgewing 'n uitwerking hê op die fisiologie, en spesifiek op die hematologie van die vis.

Hematologiese veranderlikes wat as indikators vir subletale invloede van spanning gebruik word, kan waardevolle inligting van die vis se fisiologiese reaksies op 'n veranderende eksterne medium weergee. Dit kan daarvan toegeskryf word dat daar 'n noue assosiasie tussen die vis se sirkulasiestelsel en die eksterne omgewing, asook alle organe bestaan. Visserybioloë gebruik al vir 'n geruime tyd hematologiese procedures as 'n metode om die gesondheidstoestande in akwakultuur en in visbiologiese navorsing te bepaal. Hematologiese tegnieke is ook suksesvol aangewend om die invloed van organiese insek- en onkruiddoders, industriële afval en metale op die fisiologie van visse te bepaal.

Bloukursters *Oreochromis mossambicus* is vanaf die Universiteit van Zoeloeland verkry. By die akwarium is die visse in aanhoudingstenks geplaas. Voordat hierdie visse vir blootstellings aangewend is, is hulle eers vir drie maande aan laboratoriumtoestande geakklimatiser en is daagliks met kommersiële forel-viskorrels gevoer.

Na die akklimatiseringstydperk is gesonde, onbesceerde visse na die eksperimentele 100%glastenks van 'n deurvloeisisteem oorgeplaas en vir 'n verdere week gelaat om aan te pas, voordat die blootstellings begin is. Korttermynblootstellings (96 ure) is uitgevoer deur subletale koperkonsentrasies (0,0191 en 0,0124 mg/l - blootstelling 1 en 2) en sinkkonsentrasies (0,2099 en 0,2535 mg/l - blootstelling 3 en 4) by die boorgatwater te voeg. Twintig visse is per konsentrasie blootgestel, na 96 ure is tien vir monsterneming gebruik, terwyl die res vir 'n herstelperiode van 96 ure gelaat is (geen metaal slegs boorgatwater), waarna hulle ook vir monsterneming gebruik is. Om te bepaal wat die invloed van koper en sink op die hematologie en osmoregulering van die bloukurper is, is dit nodig om eers normale waardes te

verkry deur kontrole-organismes te gebruik wat vir twee weke in die deurvloeisisteem aangehou is en dieselfde as die eksperimentele organismes hanteer is, behalwe dat daar geen spanningsagent toegevoeg word nie.

Na afloop van die blootstellings en herstelperodes is die toetsorganismes met behulp van 'n handnet uit die eksperimentele tenks verwyder, die vis is op 'n tafel geplaas en die oë met 'n lap bedek om spanning te minimaliseer. Die area waar bloed getrek word, is met 'n lap droog gevée om te verhoed dat daar kontaminasie deur die mukus en water plaasvind. Bloedmonsters is so spoedig moontlik direk vanuit die koudale aorta getrek met behulp van 'n 1 ml gehepariniseerde (5 000 eenhede per milliliter heparien) plastiese spuit. Suigkrag op die spuit is tot die minimum beperk om hemolise te voorkom. Bloed is dan na oorgeplaas na 3 ml steriele buisies waarna hematologiese en osmoregulatoriese veranderlikes bepaal is.

Verskille tussen kontrole- en eksperimentele vis is by meeste van die hematologiese veranderlikes gevind. By albei die metaalblootstellings is leukositose waargeneem wat dui op stimulering van die immuunsisteem om die vis teen infeksies, wat moontlik deur koper en sink veroorsaak word, te beskerm. Gedurende blootstellings het daar 'n suurstoftekort in die vis ontstaan. Die verlaagde beskikbaarheid van opgeloste suurstof veroorsaak die opbou van 'n suurstofskuld in die vis, dit wil sê hipoksia. Koper- en sinkgeinduseerde toenames in die aantal rooibloedselle, hemoglobienkonsentrasie en hematokritwaardes dui aan dat *O. mossambicus* probeer om te oorleef in 'n omgewing waar daar 'n verhoogde aanvraag na suurstof is. 'n Vermindering in die aantal rooibloedselle dui op rooibloedselvernietiging en interne bloeding.

Die huidige studie bevestig dus dat koper en sink wel 'n invloed op algemene hematologie het. Dit is egter belangrik dat standaardtegnieke deurgaans gebruik word, aangesien individuele variasie gevoldtrekkings hemocilik. 'n Studie van visbloed is van praktiese waarde wanneer eksperimentele besoedeling in die laboratorium nagevors word, maar is nie van dieselfde waarde in veldstudies nie.

Na herstelperodes blyk dit dat *O. mossambicus* by die verandering in die omgewing aangepas het, maar slegs gedeeltelik van die spanningstoestand herstel.

\*Aanbieder

# Die rol van fisiese en fisiologiese eienskappe van algselle by koagulering en sedimentering van fitoplankton

A.J.H. Pieterse

Departement Plant- en Bodemwetenskappe, Potchefstroomse Universiteit vir CHO, Potchefstroom, 2520

Water van verskillende bronne word gesuiwer voordat dit na verbruikers gepomp word. Oor die algemeen bestaan suiweringsprosesse uit pre- en postoksidering, sedimentering en filtrering.

Aangesien gesuspenderde algselle, soos kolloïdale deeltjies, negatiewe oppervlakladings dra, behoort die selle deur dieselfde prosesse uit die water verwijder te kan word as wat vir kolloiede gebruik word. Verskillende algspesies dring egter deur verskillende stadiumse of fases van die suiweringsprosesse, en beland sodoende in die drinkwater.

Die belang van verskillende morfologiese en fisiologiese eienskappe van algselle, sowel as wisselwerkingskragte tussen selle, is teoreties en eksperimenteel ondersoek om te verklaar waarom sekere algspesies eenheidsprosesse by watersuiwering binnedring.

Aspekte soos intersellulêre swaartekragte, die vermoë om te beweeg en van vorm te verander, die vermoë om oppervlakladings te verander en te herstel, asook die vermoë om aantrek- en afstootkragte na-aan die selopervlak te vorm,

beïnvloed hoogs waarskynlik doeltreffende koagulering en sedimentering van algselle.

Aangesien algselle heelwat groter as kolloïdale deeltjies is, kon aangetoon word dat intersellulêre swaartekragte 'n belangrike rol by selinteraksies mag speel. Vanweë die klein grootte van kolloiede is swaartekraginteraksies van weinig betekenis by die koagulering van kolloïdale deeltjies.

Deur netto massaverplasing tydens CO<sub>2</sub>-opname en O<sub>2</sub>-produksie (fotosintese) word 'n suigkrag in die onmiddellike omgewing van die sel tot stand gebring. Hierdie krag mag daartoe bydra dat die energieverstopping na-aan die selopervlak oortref word.

Die vermoë van algselle om te beweeg, sowel as die moontlikheid dat oppervlakladings na neutralisering met Fe<sup>3+</sup> en ander koagulante herstel kan word, mag daartoe bydra dat flokke wat algselle bevat onstabiel is. In sulke gevalle sal ondoeltreffende koagulering en sedimentering plaasvind, en sal die betrokke selle deur die suiweringsstappe dring.

# Die evaluering van biologiese en meganiese veldversterkingstegnieke

L. Reyncke\* en K. Kellner

Departement Plant- en Bodemwetenskappe, Potchefstroomse Universiteit vir Christelike Hoër Onderwys, Potchefstroom, 2520

Meer as 80% van Suid-Afrika word deur natuurlike weiveld beslaan. Die toestand van hierdie veld was in 1991 volgens 'n Presidentsraadsverslag swak en het die afgelope vyf jaar toenemend verswak. Veral bewaringsbewuste boere besef hierdie toenemende probleem en pas verskillende veldversterkings-tegnieke op 'n groot of klein skaal toe. Gemengde resultate word met hierdie pogings behaal. Een van die grootste leemtes wat tot swak resultate lei, is 'n tekort aan eerstehandse wetenskaplike kennis aangaande die regte gebruik van veldversterkings-tegnieke.

Dit het daartoe geleid dat die sukses van reeds bestaande veldversterkings-tegnieke wat deur boere toegepas word, geëvalueer is en 'n aantal nuwe metodes krities ondersoek is. Saad van vyf bekende klimaksgrasse wat vrylik in die handel beskikbaar is, word vir die studie gebruik. Verskillende mengsels van hierdie vyf spesies is in die proewe gebruik. Verskeie biologiese en meganiese metodes is op tien persele, onder natuurlike toestande, in grondtipes met wisselende tekstuurklasse op 'n reënvalgradiënt (350 mm tot 650 mm per jaar) en 'n variasie in die minimum en maksimum temperature toegepas. Hierdie

proewe word oor 'n tydperk van twee jaar gemonitor en geëvalueer. Die ontkiemingsvereistes en mate van saailing-vestiging word ook onder beheerde toestande in glashuise en in die laboratorium uitgevoer, om sodoende met die proewe in die veld te vergelyk. Op grond van al hierdie inligting kan die beste saadmengsel en bewerkingsmetode vir individuele omgewings-toestande bepaal word. 'n Ekonomiese ontleding is ook gedoen om die koste-effektiwiteit van die verskillende metodes te bepaal.

Enkel voorlopige resultate van hierdie langtermynstudie sluit die volgende in:

*Cynodon dactylon* word dikwels as 'n indikator van veld in 'n swak ekologiese toestand beskryf. Twee meganiese metodes word ondersoek om die digtheid van hierdie spesie te verminder, asook plante van meerjarige smaaklike spesies deur middel van saad te vestig. Voorlopige resultate dui daarop dat indien 'n aantal verskillende meganiese implemente geëvalueer word, die gebruik van 'n tandimplement die goedkoopste en effektiwste metode is vir die bekamping van hierdie probleem. Die digtheid van *C. dactylon* is vanaf 313 plante/m<sup>2</sup> na 109 plante/m<sup>2</sup>

\* Aanbieder

verminder terwyl die digtheid van die meerjarige klimaksgrasse met 21 plante/m<sup>2</sup> toegeneem het.

Die gebruik en koste van 'n meganiese tegniek vir veldversterkingsdoeleindes word grootliks deur die tipe implement en die diepte van bewerking bepaal. Dit kan wissel van 'n vlak krapbewerking teen R8,00/ha tot R170,00/ha as die

bewerking met 'n happloeg in 'n swaar kleigrond toegepas word. Die gebruik van doringtakke wat op kaal kolle in die veld geplaas word, as biologiese veldversterkingstegniek, lever baie goeie resultate in gedegradeerde veld, maar is dikwels te arbeidsintensief. Die koste van hierdie metode is ook baie hoog en beloop R3 630,00/ha.

## Konsentrasie, motiliteit en morfologie van mensperme verkry na uitvoering van vier prosesseringsmetodes

M. Roux\*, E. Pienaar, D. du Toit, M.S. Bornman, M.H. Fourie en F. le R. Fourie

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Departemente Urologie en Obstetric en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

### Inleiding

Spermprosesserings word as roetine in die *in vitro*-bevrugting-laboratorium (IVB-laboratorium) uitgevoer vir die verkryging van goeie kwaliteit sperme vir IVB-prosedures.

Vier verskillende metodes is geëvalueer. Vir die seleksie van goeie kwaliteit sperme kan drie metodes gebruik word wat daarop gemik is om goeie motiliteit te verkry, naamlik "wash and swim-up", "underlay" en "migration sedimentation". Die vierde metode, naamlik die Percoll-gradiënt is gebaseer op die feit dat beter kwaliteit sperme 'n digter samestelling het.

### Doeleindes

Om te bepaal watter prosesseringsmetode die beste presteer wat betref konsentrasie, motiliteit en morfologie.

### Materiaal en metodes

Pasiënte is gevra om drie dae sekusele onthouding te hê. Al vier die prosesseringsmetodes is op elke ejakulaat uitgevoer. Data is statisties geanaliseer om te bepaal watter metode die beste presteer.

\*Aanbieder

### Resultate

Spermkonsentrasie van minder as  $20 \times 10^6/\text{ml}$  in die ejakulaat word beskou as swak. Die Percoll-metode lever die hoogste konsentrasie sperme gevvolg deur die "underlay" en die 2de ml van die "wash and swim-up". Die hoogste persentasie sperme met 'n goeie motiliteit is verkry deur die "wash and swim-up"-en die "migration sedimentation"-metode. Die hoogste persentasie morfologiese normale sperme van ejakulate met 'n swak prognose (normale spermomorfologie 0-4%), is verkry met die 1ste ml van die "wash and swim-up"-metode, gevvolg deur die "underlay"-metode.

### Gevolgtrekking

Die metode wat gebruik gaan word vir geassisteerde reproduksie sal bepaal watter prosesseringsmetode gebruik moet word. Die ICSI- en Mikrodruppelinseminasie-metodes vereis 'n hoë spermkonsentrasie wat die Percoll-metode dus die metode van keuse maak. Vir prosedures waar 'n goeie motiliteit, spermkonsentrasie en morfologie benodig word, byvoorbeeld GIFT- en IVB-metodes, is die "wash and swim-up"-metode die metode wat verkieksal word.

## Die identifisering van *Ditylenchus africanus*: 'n morfologiese en molekulêre benadering

A. Swart

Afdeling Biosistematick, LNR-Navoringsinstituut vir Plantbeskerming, Privaat sak X134, Pretoria, 0001

### Doeleindes

Eksemplare van 'n *Ditylenchus* sp. is in 1988 as 'n biologiese ras van *D. destructor* Thorne, 1945 vanaf 'n grondboontjieiland in die Schweizer Reneke-distrik in Suid-Afrika, aangemeld. Molekulêre studies van verskeie *Ditylenchus* spp. het in 1992 getoon dat die populasie van Schweizer-Reneke verskil van ware *D. destructor*-populasies. Aangesien hierdie *Ditylenchus* sp. 'n ernstige parasiët van grondboontjies is en dit steeds deur die grondboontjieproduserende gebiede van Suid-Afrika versprei, is

in 1995 besluit om met 'n uitgebreide molekulêre en morfologiese studie van die aalwurm te begin. Die doel was om te bepaal of hier van 'n nuwe spesie of 'n biologiese ras van *D. destructor* sprake is, en in die geval van 'n nuwe spesie, die eksemplare te beskryf op beide morfologiese en molekulêre gronde.

### Materiaal en metodes

*Ditylenchus*-populasies wat vir skandeerelektronmikroskopie (SEM) en molekulêre studies gebruik is:

1. *D. africanus* (die oorspronklike *Ditylenchus* sp. van Schweizer-Reneke): Vermeerder op grondboontjiekallusweefsel by die Instituut vir Graangewasse (IGG), Potchefstroom, Suid-Afrika.
2. *D. destructor* (Verenigde Koninkryk): Oorspronklik vanaf aartappels in Ierland; vermeerder op *Rhizoctonia cerealis*-plate, Simon Fraser Universiteit, Kanada.
3. *D. destructor* (Wisconsin, V.S.A.): Oorspronklik vanaf aartappels in Wisconsin, vermeerder op mieliewortels, Simon Fraser Universiteit, Kanada.
4. *D. myceliophagus*: Oorspronklik vanaf sampioene in Duitsland; vermeerder op *R. cerealis*-plate, Simon Fraser Universiteit, Kanada.
5. *D. dipsaci*: Oorspronklik vanaf distel, Somerset, Engeland: gestoor in droë plantweefsel tot benodig.

Vir die skanderelektronmikroskoopstudie is die eksemplare in TAF gefikseer, in 'n graderende etanolreeks gedehidreer, kritieke-punt gedroog en bedek met 'n mengsel van goud en palladium (25 nm). Die eksemplare is met 'n JEOL-JSM 35 skanderelektronmikroskoop by 15 kV bestudeer.

Vir ligmikroskopie is die eksemplare met matige hitte gedood, in TAF gefikseer, geleidelik gedehidreer met die metode van Hooper & Evans en in anhidriese gliserien gemonter.

Vir die molekulêre studie is *Ditylenchus*-eksemplare vanaf fungusplate gewas, of uit plantmateriaal bekom deur die Baermann-tregter te gebruik. Aalwurm-DNA is onttrek deur bevroe aalwurms in vloeibare stikstof syn te maal, die homogenaat met proteinase K te verteer, gevolg deur 'n fenol/chloroform-ekstraksie, behandeling met Rnase en presipitasie met etanol. Hiervan is 100-200 ng monsters vir PKR(Polimerase-kettingreaksie)-amplifisering van die ITS-gebied van die r-

DNA (ribosomale DNA) gebruik. Die 18s- en 26s-voorlopers is vir die amplifisingsproses gebruik. Die produk van amplifisering is verteer deur vier restriksie-ensieme: Ddel, HaeIII, Hinfl en PstI. Die DNA-fragmente deur die proses verkry, is volgens grootte deur elektroforese op 'n agarose jel geskei, met 'n 1Kb (kilobasis)-leer as merkers. Fragmentgroottes is bereken met 'n regressielijn van grootte, standarde en elektroforetiese migrasie.

### Resultate

Die eksemplare van Schweizer-Reneke word as 'n nuwe spesie beskryf met die volgende morfologiese kenmerke: laterale veld met 6-15 lyne; stekel 8-10 µm lank; keël beslaan sowat 40% en skag sowat 60% van totale stekellengte; postvulvale uteriensak (PUS) 1.5-3.7 vulvale liggaamsbreedtes lank; stertpunt gerond en bursa beslaan 48-60% van die stertlengte.

Met die molekulêre studie is die volgende waargeneem: Die grootte van die ITS-gebied wat deur die PKR-reaksie geamplifiseer is, is in die nuwe spesie (*D. africanus*) 1.0 Kb, in *D. destructor* 1.2 Kb en 0.9 Kb in beide *D. dipsaci* en *D. myceliophagus*. Die getal en grootte van die DNA-restruksiefragmente is ook verskillend vir *D. africanus*, *D. dipsaci*, *D. myceliophagus* en *D. destructor*.

### Gevolgtrekking

Morfologies is *D. africanus* baie na aan sowel *D. destructor* as *D. myceliophagus*. Die SEM-data bevestig die stelling. Slegs deur 'n tegniek so sensitiel soos RFLP-analise was dit moontlik om tussen dié drie spesies te onderskei. Die RFLP-data het bewys dat daar ooglopende verskille tussen dié drie naverwante spesies bestaan en dat *D. africanus* nie 'n biologiese ras van óf *D. destructor* óf *D. myceliophagus* is nie.

## 'n Kleinvolume-uitvloeisel

A.M. van der Walt

Departement Biochemie en Mikrobiologie, Potchefstroomse Universiteit vir CHO, Potchefstroom, 2522

By 'n chemiese aanleg buite Potchefstroom, waar verskillende chemiese prosesse in gebruik is, bestaan die uitvloeisel uit huishoudelike afvalwater met 'n nywerheidskomponent. Na geaktiveerde slykbehandeling, chlorinering en veroudering in 'n dam, het die gehalte van die uitvloeisel steeds nie aan die vereiste standaard voldoen nie, daarom is 'n rietbedding as sekondêre behandelingsfase gekonstrueer. In die kanale van die rietbedding het die afvalwater oor die oppervlak van 'n substraat met plante gevloeい. Oppervlakvloei is onderbreek deur 'n reeks poele wat ingesluit is om die retensietyd van die water in die stelsel te verleng. Om vas te stel of die rietbedding die gehalte van die sekondêre uitvloeisel verbeter het, is die konsentrasie van sleutelveranderlikes by verskillende moniteringspunte in die stelsel gemeet. Resultate het aangetoon dat die konsentrasie gesuspenderde vastestowwe, nitrate, fosfate en opgeloste organiese koolstof as gevolg van rietbeddingbehandeling afgeneem het. Verwyderingspersentasies het daarop gedui dat die grootste vermindering plaasgevind het in die rietbeddingpoole, waar totale gesuspenderde vastestowwe met 64%,

nitrate met 47%, fosfate met 17% en opgeloste koolstof met 22% afgeneem het. Retensie in die poole het waarskynlik die assimilasie van nitrate en fosfate deur fotosinterende alge, respirasie van organiese koolstofverbindinge deur heterotrofe bakterieë, asook sedimentering en filtrering van gesuspendeerde vastestowwe, verhoog.

Seisoenale waardes het daarop gedui dat die rietbedding gedurende die winter minder doeltreffend gesunksioneer het, moontlik omdat biologiese en fisiese verwyderingsmeganismes beïnvloed is deur lae temperatuur en verminderde sonbeligting. Uit die ondersoek het dit geblyk dat rietbeddings, wat ontwerp is vir oppervlakvloei van afvalwater, aansienlike potensiaal het as lackoste-, lactechnologie- en omgewingsvriendelike stelsels vir die behandeling van voedingstofryke afvalwater. Meer spesifieke inligting aangaande die komplekse wisselwerking tussen meganismes wat besoedelingstowwe verwyder en faktore wat dit beheer, is egter nodig om meer betroubare ontwerp-spesifikasies vir rietbeddingstelsels te ontwikkel.

# Plantegroeistudies van die gefragmenteerde ranteveld in die Klerksdorpse munisipale gebied, Noordwes Provinsie

E. van Wyk\* en S.S. Cilliers

Departement Plant- en Bodemwetenskappe, Potchefstroomse Universiteit vir Christelike Hoër Onderwys, Potchefstroom, 2520

G.J. Bredenkamp

Departement Plantkunde, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0001

'n Nuwe en unieke studieprogram oor stedelike ekologie en stedelike plantegroei is deur die Departement Plant- en Bodemwetenskappe van die Potchefstroomse Universiteit vir Christelike Hoër Onderwys geïnisieer. In een van hierdie projekte word die plantegroei van die gefragmenteerde ranteveld in die Klerksdorpse munisipale gebied ondersoek. Die motivering van so 'n studie is dat hierdie gebiede bedreig word deur stedelike ontwikkeling soos nuwe residensiële gebiede, industriële ontwikkeling en ander versteurings. Hierdie plantegroeistudie vorm deel van 'n voorgestelde ekologiese basisplan vir die ontwikkeling en bewaring van hierdie gebied.

Relevès van die ranteveld is verwerk met TWINSPLAN en Braun-Blanquet- klassifikasieprosedures, terwyl DECORANA

gebruik is om gradiënte in die plantgemeenskappe te identifiseer.

Die resultate toon 'n merkwaardige spesierykheid en besondere verspreiding van plantgemeenskappe. Dit is hoofsaaklik as gevolg van die hoë diversiteit van die fisiese omgewing. Plantspesies kenmerkend van versteurde stedelike omgewings het egter ook bygedra tot die spesierykheid. Dit wil voorkom of baie min van die oorspronklike natuurlike plantegroei verdwyn het.

Hierdie studie sal bydra tot die ontwikkeling van 'n sinnoller bewaringsgeoriënteerde bestuursplan vir die gebied. Baie nuwe inligting oor die reaksie van natuurlike en intringerspesies in versteurde toestande is ook verkry.

\* Aanbieder

# Isolasie van die blougroenalg *Oscillatoria simplicissima* uit die Vaalrivier in kunsmatige groeimedium

A. Venter\* en A.J.H. Pieterse

Departement Plant- en Bodemwetenskappe, Potchefstroomse Universiteit vir Christelike Hoër Onderwys, Potchefstroom, 2520

In 1984 is 'n filamentagtige blougroenalg *Oscillatoria simplicissima* in die Vaalrivier geïdentifiseer. Dit wil voorkom asof *O. simplicissima* dieselfde spesie is as *O. rubescens* wat in die Noordelike Halfmond voorkom. Al verskil is dat *O. rubescens* 'n rooi pigment, oscillaxantien, bevat. *O. simplicissima* het *Microcystis aeruginosa* in 1992 as dominante spesie in die Loch Vaal opgevolg na 'n verhoging in die toevvoer van anorganiese fosfate. Die opbloeie is veral belangrik as gevolg van die estetiese implikasies, aangesien die gebied vir ontspanningsdoeleindes gebruik word. Tot 600 000 mense besoek die gebied jaarliks. *Oscillatoria*-opbloeie veroorsaak reuke wat wissel van grasagtig tot 'n muwwe kruierige reuk. Die stof wat die reuke veroorsaak, staan as geosmien bekend. Blougroenalg, soos *O. simplicissima* stel ook toksiese stowwe in die water vry wat menslike gesondheid kan benadeel, asook vis- en veevrektes kan veroorsaak.

Die doel van die studie is om ondersoek in te stel na die fisiologiese eienskappe van *O. simplicissima*. Vir die doel is dit

dus noodsaaklik om ten minste 'n enkel algkultuur van *O. simplicissima* te gebruik. Monsters wat uit die Loch Vaal geneem is, het verskeie groenalge, onder andere *Chlorella* sp. bevat. Al die ander alge, behalwe *Chlorella*, is deur herhaalde oorenting van *O. simplicissima* verwyder. *Chlorella*-selle is sferies, niebeweeglik en kom enkel of in groepe voor. Die groenalg heg aan die slymlaag van *O. simplicissima* vas, wat dit moeilik maak om die selle te verwyder. Die volgende metodes is gebruik om 'n enkel algkultuur van *O. simplicissima* te verkry: uitplattering op agar, agarlae, optel van filamente met kapillêre pipet onder 'n stereomikroskoop, verdunningsreeks, gebruik van antibiotiese stowwe soos sikloheksamied en amfoterisien, donkerbehandeling, hittebehandeling, UV-bestraling, sonifisering, verhoging van bikarbonaatkonsentrasie en sentrifugering.

Al die metodes was onsuksesvol. *Chlorella* sp. is geëlimineer deur gekontamineerde kulture by 35 °C en 1  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  vir 5 dae te inkubeer. *O. simplicissima* is dus suksesvol uit die Vaalrivier geïsoleer.

\* Aanbieder

# Rekenaargeassisteerde semenanalises (RASA) van bewysde fertiele mans

E. Pienaar\* en M.S. Bornman

Sentrum vir Fertiliteitstudies, Departement Urologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

G. van der Horst

Departement Fisiologie, Universiteit van Wes-Kaapland, Bellville, 7530

## Inleiding

Sperm motiliteit is een van die belangrikste parameters van semenkwaliteit. Sperme het progressiewe, voorwaartse motiliteit nodig om oësiete te kan fertiliseer. Fertiele kontroles word dikwels gekies op grond van die WGO-kriteria, maar is onderhewig aan subjektiwiteit. RASA verskaf objektiewe inligting oor die verskillende komponente van sperm motiliteit. Mans met reeds bewysde fertilitet, wat 'n vasektomie versoek, behoort dus meer geskik te wees om 'n bewysde fertiele groep te verteenwoordig vir die bepaling van normale semenparameters.

## Doeleind

Die bepaling van RASA-parameters van bewysde fertiele donors.

## Metode

Die studiegroep het bestaan uit 41 prevasektomie-mans met 'n gemiddelde ouderdom van 31 jaar met 'n reikwydte van 25 tot

54 jaar. Pasiënte van groep 1 ( $n=16$ ) het kinders jonger as 15 maande gehad, terwyl die pasiënte in groep 2 ( $n=25$ ) se kinders ouer as 15 maande was. Al die kinders was tussen die ouderdom van 1 maand en 8 jaar.

'n SMQ-systeem (Sperm motility quantifier) is gebruik om RASA op al die semenmonsters te bepaal.

## Resultate

Agter van die pasiënte (43,9%) het normale semenanalises gehad. Daar was geen betekenisvolle verskille tussen die twee groepse pasiënte nie. Die data van die twee groepse is dus gekombineer, en statistiese analise gedoen. Die belangrikste gemiddelde waardes wat gemeet is, was VCL  $82,9 \mu\text{m/s}$ , VSL  $36,9 \mu\text{m/s}$ , LIN 44,2%, VAP  $56,2 \mu\text{m/s}$  mxALH  $4,2 \mu\text{m}$  en die BCF 14,5.

## Gevolgtrekking

Hierdie RASA-parameters van die bewysde fertiele mans kan nou gebruik word as normaalwaardes vir RASA.

\*Aanbieder

# Die effek van vier kweekmedia op die vermeerderingstempo van BRL-, VERO- en ovidukt-epiteelselle (OES) vir toepassing in wildembriokokultuursisteme

D.S. Visser\* en F. le R. Fourie

Reproduktiewe Biologic Laboratorium, Departement Obstetric en Ginekologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0002

M. Meintjes

Departement van Veterinêre Fisiologie, Farmakologie en Toksikologie, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana, 7089, VSA

## Inleiding

Die gebruik van kokultuursisteme vir die *in vitro*-produksie van wildembrio's word genoodsaak deur die gebrek aan geskikte kweekmedia. Ovidukte van wildsoorte raak tydens die aanvang van oësietmaturasie beskikbaar, nl. tydens uitdunning van wild. Op hierdie laat stadium kan OES-kulture eers gevestig word, wat binne 48 uur vir kokultuur met sigote gereed moet wees.

## Doeleind

Die studie verteenwoordig 'n ondersoek na die vermeerderings-

tempo's van (i) OES van twee wildsoorte in vier verskillende kweekmedia; (ii) bees-OES en (iii) kommersieel beskikbare BRL- en VERO-selle. Die doel hiervan was om te bepaal watter medium en seltipe die vinnigste selverklewing en vermeerderingstempo's oplewer.

## Metodes

Die seltipes is elk in sesig holtes van Nunc-bakkies gesaai. Elke bakkie se holtes het elk 1 ml van die volgende bevat: Chang se D medium, Earle se gebalanseerde soutoplossing (EBSO), Ham

\* Aanbieder

se F10 medium (F10) en TCM 199 medium (TCM). Die laasgenoemde drie media is met 10% fetale kalfserum gesupplementeer. BRL- en VERO-selle: Enkellaag-kulture is gevestig deur 4 000 bevroeke/ ontdoode selle per holte te saai. OES: Ovidukte van rooihartbeeste (*Alcelaphus buselaphus*) (ROES) en springbokke (*Antidorcas marsupialis*) (SOES) is tydens 'n uitdunningsoperasie versamel. Beesovidukte is vanaf 'n lokale slagpale verkry. Velle OES is gefsoleer en toegelaat om in PBS te sedimenteer. Na verwydering van die bovloeistof het 'n digte massa selle oorgebly, waarvan 10 µl volumes in elke holte gesaai is. Al die selle is teen 38,5 °C in 5% CO<sub>2</sub> in vogversadigde lug gekweek. Drie holtes van elke medium-seltipe-kombinasie is getripsineer. Die selle is met Tripaan blou gekleur en op dae 1, 3, 5, 7 en 9 met behulp van 'n hemositometer getel.

#### **Resultate**

Silvermeerderingskrommes dui die volgende tendense aan:

Chang se medium het die hoogste mate van silverklewing sowel as die hoogste silvermeerderingstempo's ondersteun. Die silvermeerderingstempo was die laagste in EBSO en was nie aanvaarbaar nie. Die silvermeerderingstempo's in F10 en TCM was vinniger as dié van EBSO, maar nie so goed soos dié in Chang se medium nie.

#### **Bespreking en gevolgtrekking**

Chang is die gesikste kweekmedium vir die vestiging van ROES- en SOES-kulture. EBSO is nie gesik vir hierdie doel nie. Bees-OES se silvermeerderingstempo's was vergelykbaar met dié van die wildsoorte en kan as 'n alternatief oorweeg word. BRL- en VERO-selle heg vinnig vas, kan in 'n bevroe staat vervoer en gestoor word en kulture kan vinnig gevestig word. BRL-selle mag 'n beter keuse as VERO-selle wees, aangesien eersgenoemde selle stadiger vermeerder en dit gevoldig onnodig is om 'n reeks selkulture op te stel om te voorkom dat die embiokultuurmedium uitgeput raak.

## **'n Elektronmikroskoopstudie van drie fitofage mytspesies van landboukundige belang met klem op hul spinstrukture**

E.A. Ueckermann\*

LNR-Navorsingsinstituut vir Plantbeskerming, Privaat sak X134, Pretoria, 0001

L.R. Tiedt

Potchefstroomse Universiteit vir CHO, Laboratorium vir Elektronmikroskopie, Privaat sak X6001, Potchefstroom, 2520

Sommige fitofage mytspesies van die familie Tetranychidae besit die vermoë om net soos spinnekoppe sydrade te spin. Dit geskied egter nie deur middel van spintepels nie maar deur 'n eupathidium, ook genoem 'n spinneret, wat terminaal op die palptarsus voorkom. Die funksie van sydrade by myte is ook nie dieselfde as by spinnekoppe nie. Die sydrade word of in 'n digte mat geweef om eiers en onvolwassenes teen temperatuur- en vogskommelinge, predatore en selfs gifstowwe te beskerm, of word bloot net as gidsdrade of as ankertoue vir eiers gebruik. In

hierdie studie is 3 spesies vergelyk, een wat sydrade slegs as gids- en ankertoue gebruik (*Panonychus citri* [McGregor]) en 2 wat sydrade gebruik om komplekse "web"-strukture te spin (*Tetranychus evansi* Pritchard & Baker en *Eotetranychus lewisi* [McGregor]). Die spinneret van *P. citri* het 'n gladde voorkoms, is groter en spin dikker sydrade as die van *T. evansi* en *E. lewisi*. Die spinneret van *T. evansi* het ook 'n gladde voorkoms terwyl die van *E. lewisi* ventraal glad en dorsaal geriffeld is, maar beide spesies se spinnerette is kleiner en spin dunner sydrade.

\* Aanbieder