



# LANDSUDVALGET FOR SVIN

Med 334 RTK

MED 3341. WMF

MED 3342. WMF

MED 3343. WMF



REPRODUKTION

## DEN RULLENDE AFPRØVNING

Dato **13. juni 1996**

Meddelelse nr: **334**

### KONCENTRATIONSBESTEMMELSE AF ORNESÆD VED PARTIKELTÆLLING

Lisbet Vesterager

#### SAMMENDRAG

I samarbejde med KS-stationerne blev der gennemført en afprøvning af to partikeltællere til koncentrationsbestemmelse af ornesæd. Sideløbende blev der udarbejdet standardkurver til 11 nye fotometre af typen Corning 254.

51 opsamlinger blev koncentrationsbestemt ved tællinger i et tællekammer i mikroskop. Samtidig blev opsamlingerne målt på 11 fotometre og på partikeltælleren Coulter Counter Z1 og CASY®1 TT.

Resultaterne viste at spredningen på koncentrationsbestemmelsen var mindst med CASY®1 TT. Spredningen på koncentrationen bestemt med Coulter Counter Z1 og Corning 254 var lidt større, men forskellen var minimal. Det vurderes derfor, at partikeltællerne ikke umiddelbart er velegnede til installering på KS-stationerne. Som reference overfor stationsfotometrene vurderes partikeltællerne heller ikke at være velegnede.

Sideløbende blev der udarbejdet standardmåling og fortyndingsrækker med fem fortyndinger for hver opsamling til måling på 11 fotometre af typen Corning 254 for at kunne opstille ligningen for standardkurven til de 11 fotometre. I standardmålingerne blev der anvendt en 40 ganges fortynding.

På baggrund af koncentrationen bestemt ved tælling fremstilledes et såkaldt forlag med en forventet koncentration på cirka 20 mio. sædceller pr. ml. Heraf fremstilledes fortyndingsrækken for fotometrene (tabel 1).

Fra 47 opsamlinger blev der desuden foretaget målinger med en partikeltæller af typen CASY®1 TT og for 51 opsamlinger blev der målt med en partikeltæller af typen Coulter Counter Z1.

Målingen med CASY®1 TT blev foretaget ved at blande 200  $\mu$ l råsæd i 10,0 ml Casyton (speciel opløsning anbefalet af Schärfe). Fra denne opløsning blev 200  $\mu$ l udtaget og opblandet i 10 ml Casyton. Opløsningen blev placeret i CASY®1 TT'en, der automatisk sugede 200  $\mu$ l op til måling. Målingen blev gentaget tre gange på samme fortynding.

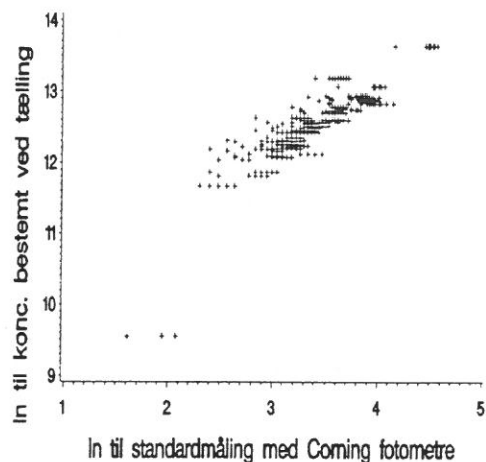
Målingen med Coulter Counter Z1 blev foretaget ved at blande 10  $\mu$ l sæd i 20,0 ml Isoton (speciel opløsning anbefalet af Struers) indeholdende 0,5 pct. Triton X100. Opløsningen blev placeret i Coulter Counteren, som automatisk sugede 1/2 ml op til måling. Denne måling blev ligeledes gentaget tre gange på samme opløsning.

## RESULTATER OG DISKUSSION

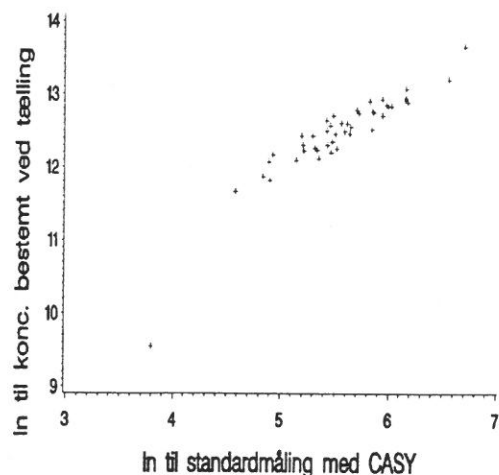
Tællingen var den eneste direkte metode til koncentrationsbestemmelse og blev derfor sammenlignet med måleresultatet for samme opsamling med henholdsvis Corning 254, CASY®1 TT og Coulter Counter Z1. Resultaterne fremgår af figur 1-3.

De to personers tællinger blev sammenlignet og kontrolleret for eventuel systematisk afvigelse ved hjælp af en t-test. Der var ikke statistisk sikker forskel mellem de to personers tællinger.

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 1. Koncentrationen bestemt ved tælling sammenholdt med standardmåling med 11 fotometre af typen Corning 254.



Figur 2. Koncentrationen bestemt ved tælling sammenholdt med standardmåling med CASY®1 TT.

**Tabel 2. Restvarians ved koncentrationen bestemt ved tælling sammenholdt med målinger med, Corning 254, CASY®1 TT og Coulter Counter Z1**

Metode	Corning 254 (11 stk.)	CASY®1 TT	Coulter Counter Z1
Restvarians	0,243 - 0,269	0,239	0,266

Der var ikke problemer med tilstopninger i CASY®1 TT og en koncentrationsbestemmelse udført som dobbeltbestemmelse tog cirka 1½ minut.

Til bestemmelsen anvendes specielle opløsninger, som bevirker, at koncentrationsbestemmelse af en sædopsamling er lidt dyrere såvel med Coulter Counteren som med CASY®1 TT end med fotometret.

Koncentrationsbestemmelse ved fotometermetoden og partikeltælling med Coulter Counter Z1 afveg i denne undersøgelse mere fra koncentrationen bestemt ved tælling end partikeltælleren CASY®1 TT.

Det vil sige, at med de tre metoder var spredningen på koncentrationsbestemmelsen mindst med partikeltælleren CASY®1 TT. Forskellen er dog ikke stor, og da partikeltællerne er de dyreste at anskaffe, samtidig med at koncentrationsbestemmelsen er den mest tidskrævende, vurderes partikeltællerne ikke umiddelbart at være velegnet til installering på KS-stationer. På grund af den relativt lille forskel i sikkerhed på bestemmelsen vurderes partikeltællerne heller ikke umiddelbart at være interessante som reference over for stationsfotometrene.

## 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.
- Den rullende Afprøvning, Meddelelse nr. 315, 1995 Koncentrationsbestemmelse af ornesæd II
- Haring R., N. den Daas and H. Woelders, 18-21 October 1994. Sperm concentration: What is reality. From European A.I. Vets Sixth Meeting, England.
- Leiding C., 6-9 august 1995. Individual differences of ejaculates used for fresh semen AI. From Third International Conference on Boar Semen Preservation, Mariensee, Germany.
- Paulenz Heiko, 1994. Konservering av Rånesæd. Ulike metoder for bestemmelse av spermiekoncentrasjon og studier av spermimembranens struktur og funksjon, forskningsoppgave for graden doctor scientiarum, Norges Veterinærhøgskole.