

Riitta Niskala

Karjun siittiöiden elinkyky siemenlaimennoksissa eri lämpötiloissa

Opinnäytetyö

Kevät 2016

SeAMK Elintarvike ja Maatalous

Agrologin Tutkinto-ohjelma



SEINÄJOEN AMMATTIKORKEAKOULU
SEINÄJOKI UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

SEINÄJOEN AMMATTIKORKEAKOULU

Opinnäytetyön tiivistelmä

Koulutusyksikkö: SeAMK Maatalous

Tutkinto-ohjelma: Agrologi

Suuntautumisvaihtoehto: Tuotantoprosessit

Tekijä: Riitta Niskala

Työn nimi: Karjun siittiöiden elinkyky siemenlaimennoksissa eri lämpötiloissa

Ohjaajat: Samu Palander ja Leena Kärkkäinen

Vuosi: 2015–2016

Sivumäärä: 22

Liitteiden lukumäärä: 3

Siemenannosten säilyvyysaika on vuosien varrella pidentynyt tutkimuksen ja hyvien ravintoliuosten ansiosta. Suomessa, jossa tiloille on pitkät matkat, säilyvyysajan merkitys korostuu. Myös Suomen ilmasto-olosuhteet ovat kuljetuksen kannalta haasteelliset, sillä lämpötilavaihtelut ovat suuria.

Tässä tutkimuksessa tutkittiin valmiiden karjun siemenannosten säilyvyyttä viidessä eri lämpötilassa tarkoituksena selvittää säilyvyysajan pidentämistä yhdellä päivällä. Tutkimuksessa todettiin, että lämpötiloilla on merkittävä vaikutus säilymisikaan. 8 ja 26 asteen säilytyksessä siittiöiden elävyys oli heikoin. Ne eivät täyttäneet edes nykyisen neljän päivän vaatimusta. 12 ja 17 asteen koe-erissä ei ollut tilastollista eroa. Nämä erät säilyivät parhaiten. Jos siemenannosten lämpötilat saadaan pidettyä koko kuljetusketjun ajan 12–17 asteen vaiheilla, voidaan niille antaa jopa kaksi lisäpäivää. Huoneenlämmössä (22 °C) tutkittujen näytteiden säilyvyys oli nykyisen neljän päivän tasolla.

Pidemmän säilyvyyden takaamiseksi siemenannokset on hyvä jäähdyttää ennen kuljetusta. Jäähdytyskaapin lämpötila on nykyisin 17 astetta. Tutkitun perusteella olisi järkevää säätää viileäkaapin lämpötila kesäisin lähemmäs 12 astetta ja talvella 17:ää. Näin voidaan kompensoida mahdollisia lämpötilavaihteluita kuljetuksen aikana. Myös määränpäässä pakkaukset on välttämätöntä siirtää nopeasti viileään.

Avainsanat: karju, sika, siemenlaimennos, siemenneste, sperma, siittiö, elinkyky, käyttöaika, lämpötila, kuljetus, varastointi, olosuhteet

SEINÄJOKI UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Thesis abstract

Faculty: Seinäjoki University of applied sciences

Degree programme: Agrologist

Specialisation: Production process

Author: Riitta Niskala

Title of thesis: Boar semen viability in the extender packets at different temperatures

Supervisors: Samu Palander and Leena Kärkkäinen

Year: 2015–2016 Number of pages: 22 Number of appendices: 3

The shelf life of extended boar semen has increased during the past few years because of research and high quality nutrient solutions. In Finland, where the distances between farms are long, there is an emphasis on longer shelf lives. The Finnish climate displays also challenges for transportation; temperature changes can be great.

This research paper focused on prepared spermatozoon's shelf life at five different temperatures to investigate the possibility of extending the shelf life by one day. The research showed that temperature had a significant effect on the shelf life. At 8°C and 26°C the spermatozoa had the weakest viability. They didn't even fulfill the current four-day requirement. Test batches between 12°C and 17°C had no statistical difference. These batches had the best shelf life. If the temperature of the spermatozoon can be kept at 12–17°C during the whole transportation process, the current four day rule can be extended by up to two days. Batches studied in room temperature (22°C) had a shelf life similar to the current four day rule.

To guarantee a longer shelf life, the extender packets should be cooled down prior to transportation. The temperature of the refrigerator currently is 17°C. Based on the research it would advisable to set the temperature to 12°C during the summer and to 17°C during the winter. This way, possible temperature changes during transportation can be compensated. Refrigeration of the packets after transportation is also essential.

Keywords: boar, pig, sperm, semen, spermatozoon, viability, temperature, transport, storage, circumstance

SISÄLTÖ

Opinnäytetyön tiivistelmä	2
Thesis abstract.....	3
SISÄLTÖ.....	3
Käytetyt termit ja lyhenteet.....	6
1 JOHDANTO.....	7
1.1 Työn tarkoitus	8
1.2 Figen Oy	9
1.3 Aiempia tutkimuksia.....	10
2 AINEISTO JA MENETELMÄT	13
2.1 Siemennesteen kerääminen.....	13
2.2 Siemenannoksien analysointi ja laimentaminen.....	14
2.3 Siittiöiden elävyyden seuranta.....	14
3 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU.....	17
3.1 Säilytyslämpötilat 8 °C ja 26 °C	17
3.2 Säilytyslämpötila 12 °C ja 17 °C	18
3.3 Säilytyslämpötila 22 °C.....	18
3.4 Faban seuranta	18
4 JOHTOPÄÄTÖKSET	19
4.1 Säilytyslämpötilat 8 °C ja 26 °C	19
4.2 Säilytyslämpötilat 12 °C ja 17 °C	20
4.3 Säilytyslämpötila 22 °C.....	21
4.4 Loppuyhteenveto	21
LÄHTEET	23
LIITTEET	1
4.5 Liite: SPSS vertailut eri lämpötilojen välillä, t-testi.....	1
4.6 Liite: Siemenlaimennosten elävyydet eri lämpötiloissa	3
4.7 Liite 3: Faban seuranta.....	4

Kuva-, kuvio- ja taulukkoluetelo

Kuva 1 Pullot järjestettiin muovilaatikoihin säilytyslämpötilan mukaan.....	15
Kuva 2 Siemenlaimennokset lämpöhauteessa ja tutkiminen mikroskoopilla.....	16
Kuvio 1 Siittiöiden liikkuvuus-% säilyvyysajan puitteissa 96 tuntiin saakka (De Ambrogi, ym. 2006, 547).	11
Kuvio 2 Parhaat elävyydet saatiin lämpötiloissa 12 °C ja 17 °C.	17
Taulukko 1 Siittiöiden liikkuvuus 0-3 päivää (Dziekońska ym. 2009, 644).	10
Taulukko 2 tiinehtyvyys ensimmäiseen siemennykseen ja pahnuekoko (Alm-Packalén 2009, 33).....	12

Käytetyt termit ja lyhenteet

Fotometri	Tiheyden/ sameuden mittaamisen käytettävä laite
Hemocytometri	Solujen lukumäärää laskeva laite
Heteroosi	Risteytyselinvoima. Kahdesta tai useammasta eri linjasta syntyneiden jälkeläisten vanhempiaan parempi kasvukyky
Karju	Urospuolinen sika, kastroimaton sika
Kyvetti	Mittausastia, jota käytetään optisissa mittauksissa. Tässä tutkimuksessa kyvettä käytettiin fotometrissä tiheyden mittauksessa

1 JOHDANTO

Suomen sianjalostus on kahden yrityksen käsissä. Figen Oy on ainoa jalostustyötä Suomessa suomalaisista eläimistä tekevä yritys (Figen Konsepti [Viitattu 17.12.2015]). Finnpig Oy tuo eläinaineksensa ulkomailta (Eläinaines [Viitattu 17.12.2015]).

Sikojen jalostuksen päämääränä ovat hyvä kannattavuus ja kilpailukyky (Sika-opas, 36-39). Käytännössä jalostus etenee siten, että sikojen ominaisuuksia mitataan ja niistä lasketaan jalostusarvoja. Hyvät yksilöt valitaan jatkamaan sukua, jolloin tapahtuu perinnöllistä muutosta koko ajan parempaan suuntaan. Keinosiemennyskarjuiksi valitaan aina rotunsa parhaat karjut. Siksi niistä saadaan nopeasti hyvin tuottavia eläimiä. Tuottajat tekevät jalostusta myös itse omilla tiloillaan valitsemalla parhaat emakot tuottamaan seuraavia sukupolvia. Joillakin tiloilla on käytössä omat karjut. Lihatuotannossa hyödynnetään heteroosia, jolloin risteytetään puhtaita rotuja keskenään. Näin parannetaan porsaiden elinvoimaa, joka näkyy suurempina pahnueina. Suomessa jalostetaan Maatiais- ja Yorkshire-rotuja. Keskeisimpiä tavoitteita lihasiantuotannossa ovat hyvä lihakkuus ja rehunkäyttökyky.

Suurin osa emakoista keinosiemennetään, ja vain harvat käyttävät omia karjuja. Porsitussikalat tilaavat tuoreita siemenannoksia tilalle tarpeen mukaan ja hoitavat pääsääntöisesti siemennykset itse. Karjuasemalla kerätty siemen toimitetaan laimennettuina 90 gramman annoksina tiloille. Suurin osa siemenannoksista toimitetaan tuottajille saman tai seuraavan päivän aikana pakkaamisesta. Maksimisäilyvyysaika niillä kuitenkin on 4 vuorokautta.

Karjuasemalla spermaa otetaan talteen sunnuntaista torstaihin. Siemenannoksia toimitetaan kuitenkin päivittäin. Näin ollen perjantain ja lauantain lähetyksissä annokset ovat käyttöön otettaessa jopa neljä päivää vanhoja. Tuottajat ovat melko hajallaan Suomen maakunnissa, ja bussiyhteydet vähenevät kaiken aikaa. Matkahuollon kuljetusten etuna on toimitusten perille saaminen saman päivän aikana. Kun poistuvia linja-autoyhteyksiä korvataan kuriirilla, toimituspäivä on aina seuraava päivä.

Siemenannokset kuljetetaan asiakkaille sellofaanilla vuoratuissa styrox-laatikoissa. Saman aamun klo 9 lähetyksiin annokset eivät ole jäähtyneet vielä, joten ne ovat pakatessa lämpötilaltaan 20–25-asteisia. Kylmäkaapissa olleet laimennokset jäähtyvät 17:ään asteeseen. Pakkauksissa ei käytetä lämmöntasaajia. Vaikka autoissa on lämmitetyt / jäähdytetyt tavaratilat, voi lämpötila kuljetuksen aikana vaihdella. Varsinkin, kun kuljetuksessa on useita välipysäkkejä, jolloin paketti odottaa kuljetusterminalissa seuraavaa yhteyttä. Suomen vuodenaikavaihtelusta johtuen lämpötilaerot ovat suuria. Kesällä riskinä on liiallinen lämpeneminen ja talvella jäähtyminen.

1.1 Työn tarkoitus

Tämän tutkimuksen on tilannut Figen Oy. Normaalissa tuotannossa siemenannosten käyttöaika on 4 vuorokautta ja suositeltu säilytyslämpötila 16–18 °C. Siemenannokset laimennetaan ja pakataan 90 gramman annoksiin. Saman aamun klo 9 lähteviin toimituksiin annokset pakataan lämpiminä, noin 20–25-asteisina. Iltapäivällä ja seuraavana päivänä pakatut annokset on jäähdytetty 16–18 asteeseen. Matkahuollon kautta toimitetut sperma-annokset ovat perillä saman päivän aikana, kuriirilla seuraavana päivänä. Sen lisäksi, että osa annoksista on lähtiessä lämpimiä, on mahdollista, että niiden lämpötila vaihtelee myös kuljetuksen aikana. Suomen lämpötilavaihtelut ovat suuria. Perille saapuessaan tuottajia on ohjeistettu säilyttämään annoksia 17 asteessa. Kaikilla tiloilla tämä ei toteudu, vaan osa heistä säilyttää niitä huoneenlämmössä.

Tutkimukseen käytettiin 12 karjun spermaa. Puolet näytteistä oli Maatiaisrotua ja toinen puoli Yorkshirea. Kaikki karjut täyttivät siitoseläimille tarkoitetut kriteerit, ja ne olivat tutkimisajankohtana Figenin käyttölistalla. Karjujen ikä vaihteli yhdeksästä kuukaudesta kolmeen vuoteen.

Tutkimukseen kerättiin yhteensä 120 siemenannosta. Kaikkiin laimennoksiin käytettiin Figenin normaalikäytössä olevaa MR-A-ravintoliuosta. Liuoksen valmistus tapahtui sekoittamalla MR-A-jauhe puhdistettuun veteen. Liuos lämmitettiin ennen laimentamista 35-asteiseksi. Sperman elävyys ja tiheys tarkistettiin ja sen tuli olla vähintään 60 %. Sen jälkeen tehtiin laimennos, jonka lopulliseksi tiheydeksi lai-

mennusohjelma laski $2,8-3,0 \cdot 10^9$. MR-A-jauheen valmistaja lupaa siemenlaimennoksille 7–10 päivän säilyvyyden. Annosten varastointilämpötilaksi se suosittelee 5–25 astetta.

Siemenannoksia säilytettiin viidessä eri lämpötilassa. Säilytys toteutettiin jääkaapeissa, huoneenlämmössä ja lämpökaapissa. Kaikki näytepullot säilytettiin vaakasennossa valolta suojattuina. Kaappien lämpötilat tarkistettiin kohdalleen useita päiviä ennen tutkimusta. Huoneenlämmössä lämpötila luonnollisesti vaihteli ja sitä seurattiinkin koko tutkimuksen ajan yhdessä ulkolämpötilan kanssa.

Annosten toimitus 4 vrk:n säilyvyysajan puitteissa on toisinaan haasteellista. Tämän tutkimuksen avulla haluttiin selvittää onko mahdollista saada säilyvyyttä yksi lisäpäivä. Tässä työssä siemenen elinkykyä seurattiin 15. päivään saakka eri lämpötiloissa. Koska olosuhteet kuljetuksen aikana muuttuvat lämpötilan osalta, sen vaikutusta siittiöiden elinkykyyn tutkittiin viidessä eri lämpötilassa. Yhden lisäpäivän varmistuminen toisi joustoa toimituksiin, ja samalla tuottajat voisivat hyvillä mielin käyttää siementä pitempään. Siementoimituksia ja sperman talteenottoa voisi tällä keinoin järkeistää ja tehostaa.

1.2 Figen Oy

Figen Oy on Snellman Lihanjalostus Oy:n kokonaan omistama yritys, joka harjoittaa sianjalostusta (Serenius 2015). Yrityksellä on 20 työntekijää. Karjuasemalla Ilmajoen Tuomikylässä tuotetaan siemenannoksia. Työntekijöitä on myös Längelmäen testiasemalla ja hallinnossa sekä mm. kentällä ja viennissä. Figenin päätehtävät ovat tuottaa jatkuvaa perinnöllistä edistymistä sianlihatuotannossa ja antaa parasta neuvontapalvelua kumppanuustiloille. Jalostusohjelma perustuu testiaseman ja tuotantotilojen tuotos-, hedelmällisyys- ym. mittauksiin ja niistä tehtäviin analyysiin. Edellisten perusteella muodostuu indeksejä ja jalostusarvoja, joiden avulla tehdään valintaa ja karsintaa. Tämän valinnan tuloksena parhaat karjut tulevat Tuomikylän karjuasemalle tuottamaan hyvälaatuista siementä uusien porsaiden isinä lihasikatuotantoon ja jalostukseen. Jalostusarvoltaan hyvät ensikot jäävät tuottamaan porsaita jalostustilalle. Keskitetty paritussuunnittelu takaa perinnöllisen edistymisen. Figen-konseptissa jalostetaan Maatiais- ja Yorkshire-rotuisia

sikoja, joista tuotetaan puhtaita- tai risteytyssemennoksia. Näistä saadaan Matriarka-emakoita porsastuotantoon, Kombi-emakoita yhdistelmätuotantoon sekä Muskeli-karjuja lihasikatuotantoon. Matriarkat periyttävät erinomaista porsastuotosta, varmaa tiinehtyvyyttä ja kestäväää ja hyvää rakennetta ja jalkoja. Kombit taas periyttävät parasta kokonaistaloudellisuutta, hyvää porsastuotosta, hyviä lihasikaominaisuuksia sekä kestäväää, hyvää rakennetta ja jalkoja. Muskeli-karjut on jalostettu lihasikatuotantoon, ja näin ollen ne periyttävät korkeaa lihaprosenttia, erinomaista rehuhyötysuhdetta ja nopeaa kasvua.

1.3 Aiempia tutkimuksia

Puolassa tutkittiin sian siemenlaimennosten säilyvyyttä mm. eri lämpötiloissa (Dziekońska, Fraser & Strzeżek 2009, 638-649). Näytteitä kerättiin kuudesta eri karjusta, iältään 1,5–3 vuotta. Yhteensä 96 näytettä otettiin viikoittain 4 kuukauden ajan (syys-joulukuu). Vain näytteet, joissa oli yli 70 % liikkuvuus ja alle 15 % epänormaalius käytettiin tutkimukseen. Sperman laimentamisen jälkeen annoksia säilytettiin huoneenlämmössä 2 tuntia, jonka jälkeen ne jäähdytettiin 5 °C:n ja 16 °C:n lämpötiloihin. Näytteet analysoitiin mikroskooppisesti ennen jäähdytystä, 48 tunnin ja 96 tunnin jälkeen. Tuloksien luotettavuuden parantamiseksi tutkimukset suoritti aina sama henkilö. Tutkimuksessa todettiin, että lämpötiloilla on vaikutusta siittiöiden elinkykyyn. 5 °C:n lämpötilassa standardilaimennoksessa niiden elinkyky oli huonompi kuin 16 °C:ssa. Molemmissa koesarjoissa elinkyky laski säilytyksen aikana.

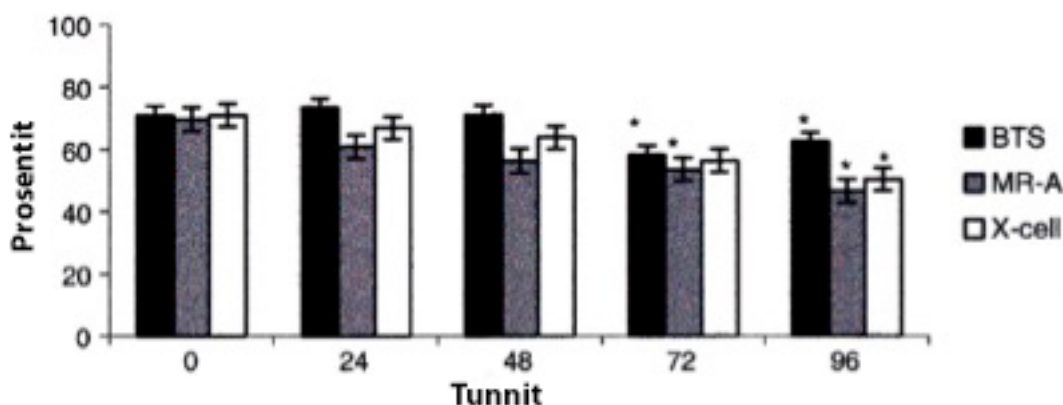
Taulukossa 1 standardilaimennosnäytteen tulokset päivinä 0–3 (Dziekońska ym. 2009, 644). Siittiöiden liikkuvuus oli tutkimuksen alussa 61,6 %. 5 °C:n säilytyksessä niiden liikkuvuus 48 h:n analyysissa oli 31,5 % ja 96 h:n jälkeen 18,3 %. Vastaavasti 16 °C:ssa säilytetyt; 48 h 39,2 % ja 96 h 24,3 %. Siittiöiden elinkyky oli parempi 16 °C:n lämpötilassa.

Taulukko 1 Siittiöiden liikkuvuus 0-3 päivää (Dziekońska ym. 2009, 644).

	Päivä 0	Päivä 2		Päivä 3	
	alkumäärittäminen	5 °C	16 °C	5°C	16 °C
Liikkuvuus	61,6	31,5	39,2	18,3	24,3
Hajonta	±1,4	±2,0	±2,0	±1,3	±1,5

Uppsalassa tutkittiin muun muassa siemenlaimennoksien säilyvyyttä eri jatkeaineilla (De Ambrogi ym. 2006, 543). Näytteitä säilytettiin 17 °C:ssa 96 tuntia. Siemenet kerättiin 4:stä eri karjasta. Tutkimuksessa saatiin selville, että siittiöiden liikkuvuus väheni säilyvyysajan kuluessa (546-548). Eri jatkeaineilla ei ollut tähän suurta merkitystä. Ensimmäinen huomattava väheneminen liikkuvuudessa havaittiin 72 tunnin säilytyksen jälkeen yhtä jatkeainetta lukuun ottamatta, jossa muutos havaittiin vasta 96 tunnin jälkeen.

Kuviossa 1 on esitetty siittiöiden liikkuvuus 96 tuntiin saakka 17 °C säilytyksessä eri laimennusaineilla (De Ambrogi, ym. 2006, 547). Aika-akselilla voidaan nähdä, että liikkuvuus väistämättä laskee säilytyksen aikana.



Kuvio 1 Siittiöiden liikkuvuus-% säilyvyysajan puitteissa 96 tuntiin saakka (De Ambrogi, ym. 2006, 547).

Väitöskirjassaan Karoliina Alm-Packalén (2009, 39) tutki karjujen spermaa ja siemenlaimennoksen laatua keinosiemennyksessä. Hän totesi, että siemenlaimennoksen rutiininomainen tutkiminen ennen käyttöönottoa on tärkeää, jotta huonot annokset voidaan karsia pois. Täten vain hyvät erät toimitetaan tiloille. Tutkimuksessa selvisi myös, että yhden sperma-annoksen siittiöiden määrän tulee ylittää $3 \cdot 10^9$ (32). Tällä siemenmäärällä (ryhmä B) saavutettiin 84 % tiinehtyminen ensimmäiseen siemennykseen. Siementiheyden ollessa $2 \cdot 10^9$ (ryhmä A) saavutettiin 75,8 % tiinehtyminen ensimmäiseen siemennykseen. Tutkimuksen ensikoilla pahnuekoko oli keskimäärin 10,7 porsasta siittiöiden määrän ollessa $3 \cdot 10^9$ kun taas $2 \cdot 10^9$ laimennoksella 10,1 porsasta. Emakoilla vastaavat tulokset olivat 12,1/11,7.

Tutkimukseen hyväksyttiin niiden karjujen siemenneste, jonka määrä oli yli 1 dl, liikkuvuus $\geq 60\%$, siittiöiden määrä $\geq 20 \times 10^9$ ja epänormaaleja $< 20\%$ (24). Elävyys määritettiin mikroskoopilla. Siemennestettä tiputettiin lämmitetylle mikroskoopin lasille ja elävyys tutkittiin silmämääräisesti. Volyymi ja tiheys mitattiin fotometrillä. Fotometrin tuloksen paikkansa pitävyys varmistettiin vielä käyttämällä hemocytometriä.

Taulukossa 2 näkyy erot ryhmän A ja B pahnuekoossa ja tiinehtyvyydessä (Alm-Packalén 2009, 33). Erot ovat tilastollisesti merkitseviä. Tästä voidaan todeta, että siementiheydellä on merkitystä sekä tiinehtyvyyteen että pahnuekokoon.

Taulukko 2 tiinehtyvyys ensimmäiseen siemennykseen ja pahnuekoko (Alm-Packalén 2009, 33).

	Ryhmä A (2×10^9)	Ryhmä B (3×10^9)	P
Tiinehtyvyys %	75.8 ± 8.8	84.0 ± 3.7	< 0.001
Pahnuekoko ensikoiden porsimisissa	10.1 ± 1.0	10.7 ± 0.6	< 0.001
Pahnuekoko emakoiden porsimisissa	11.7 ± 0.7	12.1 ± 0.6	< 0.001

2 AINEISTO JA MENETELMÄT

Porsastuotanto on nykyään riippuvainen karjuasemien tuottamasta spermasta, koska niillä enää harvoin on käytössä omia karjuja. Karjuasemalla tehdään kovasti töitä sen eteen, että sperma on elävää tilalle saapuessa ja käyttökelpoista viimeiseen pakkauksessa merkittyyn päivämäärään saakka. Suomen oloissa pitkät kuljetusmatkat ja vaihtelevat sääolot tuovat omat haasteensa toimituksiin.

Sperma säilötään laimennusliuokseen, joka lisää siittiöiden elinaikaa sen sisältämien suoja- ja ravintoaineiden ansiosta. Viileässä säilytyslämpötilassa siittiöt vaikeutuvat horrokseen, jolloin ne kuluttavat vähemmän energiaa. Nämä kaksi asiaa yhdistettynä nopeaan kuljetusverkostoon ovat koko siementuotannon kulmakiviä.

2.1 Siemennesteen kerääminen

Tutkimukseen valittiin 12 karjua Figenin käyttölistalta; 6 Maatiaista ja 6 Yorkshirea. Karjut täyttivät siitoseläimille asetetut kriteerit. Tutkimuksen alussa kerättiin siemennestettä kaikilta karjuilta. Suunnitelman mukaan nestettä otettiin kolmena peräkkäisenä päivänä.

Karjun karsinan etupäähän vietiin hyppypukki, joka sidottiin köydellä tukevasti karsinan aitarakenteisiin. Tämän jälkeen karjun odotettiin kiihottuvan ja hyppäävän pukin päälle. Kun siitin tuli esiin, nesteenottaja meni karsinaan karjun viereen jakkaralle istumaan ja otti kertakäyttökäsineet kädessä voimakkaan puristusotteen terskasta. Kun siemenneste alkoi virrata ulos, se kerättiin siiviläpussilla varustettuun kannuun, jolloin siittiörikas siemenneste meni siivilän läpi pussiin ja geelimäinen tulppa-aine jäi siivilään. Siittimestä pidettiin kiinni ns. joutsenenkaulaotteella, jotta mahdollinen virtsa ja muu epähygieeninen aines ei päässyt valumaan kannuun siittimen vartta pitkin. Siemennestettä kerättiin yhdestä karjusta kerrallaan niin kauan kuin karju pysyi pukilla. Normaalisti siemennesteen keräämiseen yhdeltä karjulta kului noin 15 minuuttia. Lopuksi pussin siiviläosa poistettiin ja siemennestettä sisältävä pussi toimitettiin laboratorioon tutkimista, laimentamista ja pakkaamista varten.

2.2 Siemenannoksien analysointi ja laimentaminen

Laimennusneste valmistettiin etukäteen puhdistetusta vedestä ja MR-A-laimennusnestejauheesta. Nestettä laskettiin 2,5 litraa karjua kohti. Laimennussuhde oli 40 grammaa jauhetta ja 1 litra puhdistettua vettä. Ennen siemenlaimennoksien valmistusta liuos lämmitettiin 35-asteiseksi. Kaikkiin näytteisiin käytettiin samaa, normaalissa käytössä olevaa laimennusjauhetta. Laimennusneste suojaa siittiöiden kalvorakennetta laimennusprosessin jälkeen ja stabiloi pH:n. Se myös hallitsee sperma-annoksia bakteeripilaantumiselta ja vähentää siittiöiden liimaantumista kasoiksi.

Heti laboratorioon saapuessa siemenneste punnittiin ja laimennettiin 1:1. Sen jälkeen nestettä pipetoitiin 100 µl läpivalaisukyvetiin, jossa oli valmiiksi 3 ml 0,9 %:sta NaCl-liuosta. Tämä neste läpivalaistiin fotometrissä. Lisäksi neste tutkittiin mikroskoopissa, jossa arvioitiin siittiöiden elävyys silmämääräisesti asteikolla 0–100 %. Jos mikroskoopin lasilla todettaisiin alle 60 % elävyys, se hylättäisiin. Tutkimuksen karjujen siemennesteen elävyys oli kaikilla hyväksyttävällä tasolla. Yhtä karjua kohti saatiin 120–370 grammaa siemennestettä.

Fotometrin antama tiheys, aistinvaraisesti tutkittu elävyys ja siemennesteen volyyymi siirrettiin suoraan tietokoneen laimennusohjelmaan, jonka annettiin nyt laskea laimennusnesteen määrä. Ohjelma ohjasi pumpun toimintaa ja pumppasi aina oikean määrän laimennusnestettä alkuperäisen vahvan laimennoksen joukkoon. Valmiin laimennoksen tiheydeksi oli määrätty $2,8\text{--}3,0 \cdot 10^9$. Laimennos voitiin nyt pakata. Siemennesteen määrä, tiheys, elävyysprosentti, annosmäärä ja lypsäjä tallentui ohjelmaan karjukohtaisesti. Liikkuvuus ei vaikuttanut laimennussuhteeseen.

2.3 Siittiöiden elävyyden seuranta

Jokaisesta koekarjusta otettiin 10 siemenannosta koetta varten hankittuihin 100 ml:n kierrekorkillisiin siemennyspulloihin. Kaikista karjuista otettiin tutkittavaksi kaksi annosta viiteen eri lämpötilaan. 8, 12 ja 17 asteen tutkimus toteutettiin jääkaapeissa. Kaappien lämpötila säädettiin kohdalleen ennen tutkimusta. 22 asteen

koe tehtiin huoneenlämmössä. Tutkimukselle varattiin kaappi, johon ei päässyt valoa, ja sinne asetettiin lämpömittari, josta tarkistettiin lämpötila päivittäin. 26:n asteen näytteet laitettiin lämpökaappiin, jonka lämpötila oli niin ikään etukäteen säädetty oikeaksi. Pullot merkittiin karjun nimellä ja vain toinen pulloista merkittiin käytettäväksi tutkimukseen (Kuva 1). Toinen pullo oli varapullo. Kaikki koe-erät säilytettiin valolta suojattuna. Pullot käännettiin varovasti ylösalaisin kahteen kertaan joka päivä, myös 1. ja 2. päivänä, jolloin tutkimusta ei tehty.



Kuva 1 Pullot järjestettiin muovilaatikoihin säilytyslämpötilan mukaan.

Tutkimuksen käytössä oli pieni vesihaude, joka säädettiin etukäteen tarkasti 35:een asteeseen (Kuva 2). Kaikki näytepullot käännettiin varovasti ennen tutkimusta. Pullot olivat yhdellä tutkimuskerralla huoneenlämmössä noin 15 minuuttia, kun niistä jokaisesta otettiin 5 ml nestettä koeputkeen. Koeputket asetettiin telineessä 35 °C vesihauteeseen lämpenemään 20 minuutiksi, jotta horroksessa olevat siittiöt heräävät ja alkavat liikkua. Tämän jälkeen nestettä tiputettiin mikroskoopin lämmitetylle lasille, jossa tehtiin aistinvarainen siittiöiden elävyyden arviointi, joka kirjattiin asteikolla 0–100%. Tulokset siirrettiin Excel-taulukkoon, jossa niistä laskettiin keskiarvo, keskihajonta, minimi ja maksimi. Kyseiset taulukot vietiin lisäksi SPSS-ohjelmaan, jossa niille tehtiin t-testi. Testissä verrattiin eri lämpötiloissa säilytettyjen tulosten keskiarvoja keskenään ja näin selvitettiin oliko niiden välillä tilastollista eroa.

Tämän tutkimuksen rinnalle otettiin Faban Figenille tekemät elävyyttutkimukset ajalta 27.5.–5.11.2015. Niistä laskettiin Excel-ohjelmalla keskiarvo, keskihajonta, minimi ja maksimi. Yorkshire- ja maatiais-rotujen tulokset pidettiin erillään.

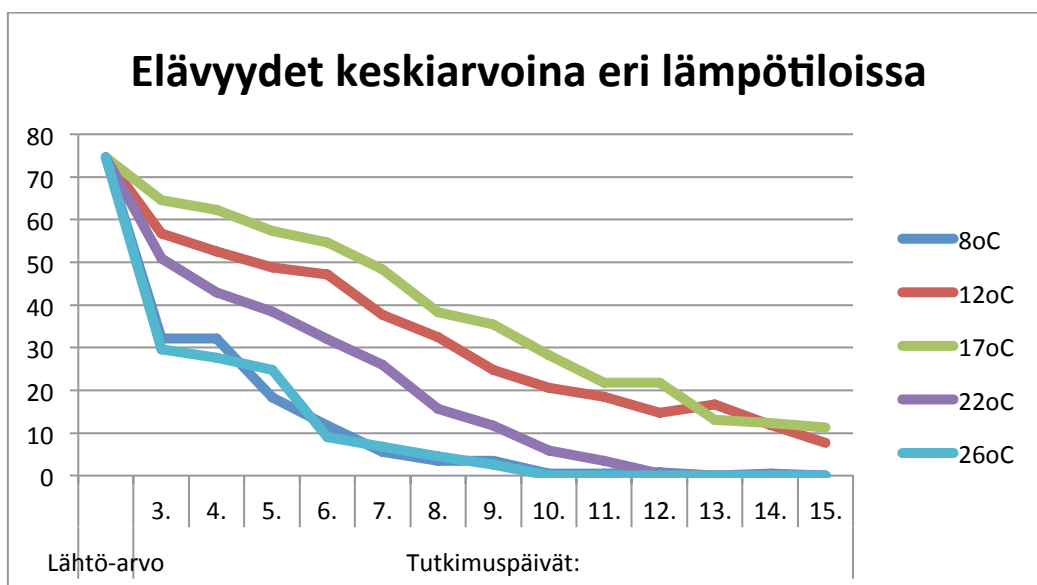


Kuva 2 Siemenlaimennokset lämpöhauteessa ja tutkiminen mikroskoopilla.

3 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELO

Tässä tutkimuksessa seurattiin karjun siittiöiden elävyyttä siemenannoksissa 0-15 päivän ikäisinä eri lämpötiloissa. Tutkimuksessa oli mukana 12 karjaa, joiden siemennestettä tutkimukseen kerättiin. Havainnot kirjattiin Excel-ohjelmaan prosentteina 0–100 % ja niistä laskettiin mm. keskiarvo. Excel- taulukot vietiin SPSS- ohjelmaan, jolla niille tehtiin t-testi.

Tämän tutkimuksen mukaan keskiarvallisesti parhaat tulokset saatiin 12:n ja 17:n asteen lämpötiloissa (Kuvio 2). Vaikka keskiarvoissa on eroa 17:n asteen hyväksi, ei näiden välillä t-testissä ollut tilastollisesti merkitsevää eroa.



Kuvio 2 Parhaat elävyydet saatiin lämpötiloissa 12 °C ja 17 °C.

3.1 Säilytyslämpötilat 8 °C ja 26 °C

Tutkimuksen alhaisimmassa, 8 °C lämpötilassa, ja korkeimmassa, 26 °C:ssa, säilytettyjen siemenannosten elävyydet olivat tilastollisesti samaa tasoa. Kolmantena ja neljäntenä päivänä elävyydet olivat 28-32 prosentin tasolla. Elävyydet laskivat hyvin jyrkästi säilytyksen aikana.

3.2 Säilytyslämpötila 12 °C ja 17 °C

Parhaimmat siittiöiden elävyydet saatiin 12 ja 17 asteen lämpötiloissa. Käytössä oleva normaali säilytyslämpötila on 17 °C. Vaikka keskiarvolla mitattuna 17 asteen tulos näyttää paremmalta, näillä ei ole keskenään tilastollista eroa. Vielä 6. päivänä siittiöiden elävyydet olivat 47–55 %. Kummassakin koesarjassa yhden Maatiaiskarjun siemenannoksen elävyys oli muita huomattavasti huonompi. 12 °C:ssa Maatiaiskarju Filen siittiöiden liikkuvuus oli $\leq 10\%$ heti 3. päivästä lähtien. 17 °C:ssä Maatiaiskarju Molken siittiöiden elävyys laski $\leq 10\%$ 4. päivästä eteenpäin.

3.3 Säilytyslämpötila 22 °C

Huoneilman lämpötilan keskiarvo oli 21,3 °C. Vaikka ulkolämpötilan vaihtelu oli tutkimuksen aikana useita asteita, se ei juuri vaikuttanut huoneilman lämpötilaan. Se pysyi 21–22 asteessa yhtä tutkimuspäivää lukuun ottamatta. 4.7. lämpötila nousi yhden kerran 23:een. Tutkimukseen osui yksi hellepäivä, 29.6., joka ei ehtinyt vaikuttaa lämpötilaan sisällä.

Kun verrataan 22 asteen säilytyslämpötilaa 17:ään asteeseen ero oli tilastollisesti merkitsevä. 12 asteen kanssa eroa ei todettu. Viidentenä tutkimuspäivänä elävyys oli keskiarvona 38%, mutta neljässä näytteessä laskenut jo $\leq 10\%$.

3.4 Faban seuranta

Faba tekee Figenille säännöllisesti sperma-annosten elävyyssuranta. Tähän tutkimukseen otettiin tulokset ajalta 27.5.–5.11.2015. Analyseja puhtaista annoksista tällä ajanjaksolla oli kertynyt yhteensä 177 kpl, joista Yorkshirea oli 92 kpl ja Maatiaista 85 kpl. Tutkimukset oli tehty 6–8 päivän ikäisistä laimennoksista. Maatiaisten siittiöiden elävyys oli keskimäärin 58 %, minimi 20 %, maksimi 80 % ja keskihajonta 9 %. Yorkshirella keskiarvo oli 54 %, minimi 10 %, maksimi 80 % ja keskihajonta 12 %. Kaikista karjuista kahden näyte oli 10 % ja nämä molemmat olivat Yorkshire-rotuisia.

4 JOHTOPÄÄTÖKSET

4.1 Säilytyslämpötilat 8 °C ja 26 °C

Tutkimuslämpötiloista 8 ja 26 astetta saivat alhaisimmat elävyydet. Kummassakin sarjassa 1/3 näytteistä elävyys oli pudonnut 4. päivänä < 10 %. Koesarjat olivat elävyydeltään samalla tasolla, koska niiden välillä ei t-testissä todettu tilastollista eroa. Siittiöiden elävyys ei yllä nykyiseen neljän päivän tavoitteeseen.

Kuljetusaika vaihtelee päivästä kahteen. Liiallista jäähtymistä ja lämpenemistä tulee välttää kuljetuksen aikana. Pitkien matkojen päähän kuljetetut pakkaukset altistuvat lämpötilavaihtelulle enemmän. Riski liialliselle lämpötilavaihtelulle on suurimmillaan talvipakkasilla ja kesähelteillä.

Heti aamusta, laimentamisen jälkeen pakatut annokset ovat 20–25-asteisia. Sellofaanilla vuorattu styrox-pakkaus eristää tehokkaasti, joten lämpötila laskee hitaasti viileässä. Koska kaikissa autoissa ei ole kylmäkoneita, voi olla riski, että kesähelteillä nämä annokset lähtevät kuljetuksen aikana jopa lämpenemään. Jos tuottaja vielä perillä säilyttää pakkauksia huoneenlämmössä, ei neljän päivän säilyvyyttä voida taata.

Siemenlaimennosten suositeltu säilytyslämpötila on nyt 16–18 °C. Riippuen pakkaamisajankohdasta annosten lämpötila on lähetettäessä 17–25 astetta. Talvella kuljetuksessa käytetään autoja, joiden tavaratiloissa on yleensä lämmitys. Riski sille, että siemenannokset alkavat liiaksi jäähtymään, tapahtuu todennäköisimmin talvipakkasilla vaihtojen yhteydessä kuljetusterminaaleissa. Siellä pakkauksia ympäröivä lämpötila voi pudota miinusasteille. Tässä tutkimuksessa ei ole selvitetty kuinka paljon lämpötila voi vaihdella kuljetuksen aikana, mutta riski kasvaa mitä useampia vaihtoja lähetyksellä on.

Tämän tutkimuksen valossa on perusteltua, että annokset olisi jäähdytetty ennen pakkaamista. Liian korkeita tai matalia lämpötiloja voisi jatkossa ehkäistä säätämällä viileäkaapin lämpötilat pakkaamossa vuodenaikojen mukaan. Kesällä lämpötila voi olla 12 °C ja talvella 17 °C.

4.2 Säilytyslämpötilat 12 °C ja 17 °C

Parhaat elävyytulokset saatiin 12 ja 17 asteen säilytyksessä. Siittiöiden elävyydet olivat kuudentena päivänä vielä 47–55 %. Näiden kahden sarjan keskinäisessä keskiarvojen vertailussa ei todettu tilastollista eroa. Jos annokset ovat lähetyssajankohtana 17-asteisia, ei muutaman asteen jäähtyminen vaikuta elävyyteen mitenkään. Lämmön nousu 22 asteeseen takasi edelleen neljän päivän säilyvyyden.

Pakkaamon viileäkaapin lämpötila on säädetty normaalioloissa 17:ään asteeseen. Myös tuottajia on ohjeistettu säilyttämään tilaamansa annokset tässä samassa lämpötilassa. Tiedetään, että kyseisessä lämpötilassa siittiöt vaipuvat horrokseen, jolloin ne säästävät energiaa ja pysyvät pitkään elävinä.

Kesällä, kun pakkauksia ympäröivä lämpötila saattaa olla 20 asteen tietämällä, on erittäin tärkeää, että siemenannokset on jäähdytetty ennen pakkaamista. Kesäaikaan olisi perusteltua jäähdyttää annokset 12 asteeseen, jolloin ne eivät matkalla liiaksi lämpenisi. Talvella lämpötila voisi olla nykyisessä 17 asteessa, jolla ehkäistään liika jäähtyminen. On myös tärkeää, että kaikissa autoissa olisi jäähdytys/lämmitys vuodenaikojen mukaan.

Tämän tutkimuksen perusteella säilytyslämpötilan liikkumavaraa voisi laajentaa 12–17 °C:een. Jos kyseinen vaihteluväli saadaan pidettyä koko kuljetusketjun ajan, voisi säilyvyysaika olla 6 päivää. Tällöin karjuasemalla olisi aikaa jäähdyttää annokset ennen lähettämistä eikä lähettäminen samana aamuna olisi pakollista. Myös siemenen talteenotto päivät voidaan suunnitella järkevämmiin. Ainakin toinen lisäpäivä jäisi tuottajien eduksi. Heidän olisi näin ollen mahdollista tilata myös suurempia eriä annoksia, koska niiden säilyvyys olisi pidempi.

Näiden tutkimussarjojen sisällä oli kummassakin lämpötilassa yksi huono näyte. 12 asteen sarjassa File-Maatiaskarjun näytteen elävyys oli laskenut heti kolmannelta päivästä lähtien ≤ 10 %. 17:ssä asteessa Molke-Maatiaskarjun näytteessä elävyys laski ≤ 10 % neljänestä päivästä eteenpäin. Yksilöiden välillä on eroja. Lisäpäiviä kuitenkin puoltaa Faban pitkäaikainen ja puolueeton seuranta, jossa

siemenlaimennosten elävyydet olivat 6–8 päivän ikäisinä 54–58 prosentin tasolla. Nämä seurantanäytteet jäähdytetään aina ennen pakkaamista ja kuljetusta.

Kun lämpötilat hallitaan koko kuljetusketjun ajan ja vielä perillä, on aivan perusteltua lisätä säilyvyysaikaa 2 päivää. Muutoksen voi huoletta tehdä seossiemenannoksiin. Jos puhtaiden karjujen kohdalla halutaan vielä varmistella, voidaan annoksien säilyvydet tutkia yksilökohtaisesti. Yleisesti ottaen myös puhtaat annokset säilyvät 6 päivää.

4.3 Säilytyslämpötila 22 °C

Jos pitäydytään nykyisessä neljän päivän säilyvydessä, myös 22 asteen säilytyslämpötila on hyväksyttävä. 5. ja 6. päivän kohdalla ero 17 asteeseen on kuitenkin jo merkittävä 17:n hyväksi. Viidentenä päivänä huonoja annoksia oli joukossa 5 kpl ja kuudentena kuusi.

4.4 Loppuyhteenveto

12 ja 17 asteen säilytyslämpötiloissa siittiöiden elävyys oli hyvällä tasolla ainakin 6. päivään saakka, ellei jopa pidempään. 22 asteen lämpötilassa säilytettyjen näytteiden elävyys ylsi nykyiseen neljän päivän vaatimustasoon. 8 ja 26 asteen tulokset olivat niin huonot, että näitä säilytyslämpötiloja tulee välttää. Tutkimuksen tulosta tukevat Faban tekemät säännölliset seurannat, joissa siittiöiden elävyys oli 54–58 % tasolla 6–8 päivän ikäisinä, kun ne oli säilytetty ja kuljetettu viileässä.

Näytteet oli säilytetty koko tutkimuksen ajan samassa lämpötilassa. Normaaliolosuhteet matkalla ja määränpäässä vaihtelevat. Tämän tutkimuksen perusteella siittiöiden paras elävyys taataan 12–17 asteen lämpötiloissa. On perusteltua jäädyttää annokset aina ennen lähettämistä. Kesällä autojen tulisi olla jäähdytettyjä ja talvella lämmitettyjä sekä vielä perillä annokset tulee viedä välittömästi viileään. Matkan varrella kuljetustermiinaaleissa siemenlähetykset tulisi pitää erillään eikä niitä saisi altistaa kuumuudelle tai pakkaselle.

Tämän tutkimuksen tarkoitus oli saada siemenannoksille yksi lisäpäivä. Jos kylmäketju saadaan pidettyä 12–17 asteessa koko ajan, voidaan lisäpäiviä antaa jopa kaksi. Lisäpäivistä saadaan hyötyä sekä karjuasemalla että tuottajan päässä. Karjuasemalla siemennesteen talteenottoa voidaan tehostaa ja siellä on aikaa ennen lähettämistä jäähdyttää annokset oikeaan lämpötilaan. Tuottajat voivat tilata reilummin annoksia yhdellä tilauskerralla. Annosten ennakkoon jäähdyttämistä tukee myös Faban seurantaloket, koska ne on aina ennen lähettämistä jäähdytetty 17 asteeseen, ja ne säilyvät hyvin jopa 8 päivän ikäisiksi. Viime kesän lämpimän ajanjakso elokuussa ei sekään alentanut seurantanäytteiden elävyyksiä.

LÄHTEET

- Alm-Packalén, K. 2009. Semen quality and fertility after artificial insemination in dairy cattle and pigs. [Verkkójulkaisu]. Helsinki: University of Helsinki. Väitösk. [Viitattu 4.5.2015]. Saatavana: <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/19005/semenqua.pdf?...2>
- De Ambrogi, M., Ballester, J., Saravia, F., Caballero, I., Johannisson, A., Wallgren, M., Andersson, M. & Rodriguez-Martinez, H. 2006. Effect of storage in short- and long-term commercial semen extenders on the motility, plasma membrane and chromatin integrity of boar spermatozoa. *International Journal of Andrology*, 29 (5) 543-552.
- Dziedońska, A., Fraser, L. & Strzeżek, J. 2009. Effect of different storage temperatures on the metabolic activity of spermatozoa following liquid storage of boar semen. [Verkkójulkaisu]. Olsztyn-Kortowo, Puola: Warmia and Mazury University in Olszyn, Department of Animal Biochemistry and Biotechnology. [Viitattu 30.4.2015]. Saatavana: https://www.researchgate.net/profile/Anna_Dziedońska/publication/228680949_Effect_of_different_storage_temperatures_on_the_metabolic_activity_of_spermatozoa_following_liquid_storage_of_boar_semen/links/54eaf4560cf2f7aa4d5872af.pdf
- Eläinaines. [Verkkosivu]. Finnpig. [Viitattu 17.12.2015]. Saatavana: <http://www.finnpig.fi/elainaines/>
- Figen Konsepti. Sikamaisen tehokkaat Figen ratkaisut. [Verkkosivu]. Figen. [Viitattu 17.12.2015]. Saatavana: <http://www.figen.fi/index.php?id=53>
- Serenius, T. 2015. Figen jalostusohjelma. Figen. Julkaisematon.
- Sikaopas. Ei päiväystä. Faba Jalostus ja Karelia Hybrid-osuuskunta.

LIITTEET

4.5 Liite: SPSS vertailut eri lämpötilojen välillä, t-testi

8 vs 12

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper	
3.pv	Equal variances assumed	2,717	0,115	-1,871	20	0,076	-24,6167	13,1565	-52,0607	2,8274
	Equal variances not assumed			-1,905	20	0,071	-24,6167	12,9237	-51,5751	2,3418
4.pv	Equal variances assumed	2,942	0,1	-2,027	22	0,055	-20,3333	10,032	-41,1385	0,4718
	Equal variances not assumed			-2,027	19,141	0,057	-20,3333	10,032	-41,3202	0,6535
5.pv	Equal variances assumed	0,212	0,65	-3,142	22	0,005	-30,4167	9,6816	-50,4952	-10,3382
	Equal variances not assumed			-3,142	21,992	0,005	-30,4167	9,6816	-50,4956	-10,3377
6.pv	Equal variances assumed	0,92	0,348	-4,006	22	0,001	-35,3333	8,8194	-53,6236	-17,043
	Equal variances not assumed			-4,006	21,802	0,001	-35,3333	8,8194	-53,6333	-17,0334
7.pv	Equal variances assumed	8,552	0,008	-3,611	22	0,002	-32,1667	8,9068	-50,6382	-13,6951
	Equal variances not assumed			-3,611	16,451	0,002	-32,1667	8,9068	-51,0062	-13,3271

8 vs 17

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper	
3.pv	Equal variances assumed	37,653	0	-3,059	21	0,006	-32,4621	10,6132	-54,5335	-10,3907
	Equal variances not assumed			-3,167	14,116	0,007	-32,4621	10,2507	-54,4308	-10,4934
4.pv	Equal variances assumed	4,558	0,045	-2,935	21	0,008	-30,1061	10,2563	-51,4352	-8,7769
	Equal variances not assumed			-2,991	18,935	0,008	-30,1061	10,0647	-51,1767	-9,0354
5.pv	Equal variances assumed	0,094	0,762	-4,045	21	0,001	-39,0303	9,6491	-59,0967	-18,9639
	Equal variances not assumed			-4,051	20,931	0,001	-39,0303	9,6343	-59,0699	-18,9907
6.pv	Equal variances assumed	0,001	0,973	-5,083	22	0	-42,9167	8,4427	-60,4258	-25,4075
	Equal variances not assumed			-5,083	21,996	0	-42,9167	8,4427	-60,426	-25,4074
7.pv	Equal variances assumed	3,554	0,073	-5,464	22	0	-42,8333	7,8391	-59,0907	-26,576
	Equal variances not assumed			-5,464	18,174	0	-42,8333	7,8391	-59,2914	-26,3752

8 vs 22

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper	
3.pv	Equal variances assumed	7,834	0,011	-1,583	21	0,128	-18,8258	11,8919	-43,5563	5,9048
	Equal variances not assumed			-1,611	19,318	0,123	-18,8258	11,6879	-43,2615	5,61
4.pv	Equal variances assumed	1,25	0,276	-1,018	22	0,32	-10,8333	10,6414	-32,9023	11,2356
	Equal variances not assumed			-1,018	20,874	0,32	-10,8333	10,6414	-32,9715	11,3049
5.pv	Equal variances assumed	1,77	0,197	-1,919	22	0,068	-20,0833	10,4655	-41,7875	1,6208
	Equal variances not assumed			-1,919	21,446	0,068	-20,0833	10,4655	-41,8201	1,6534
6.pv	Equal variances assumed	4,435	0,047	-2,03	22	0,055	-20,1667	9,9328	-40,766	0,4327
	Equal variances not assumed			-2,03	20,328	0,056	-20,1667	9,9328	-40,8647	0,5313
7.pv	Equal variances assumed	11,368	0,003	-2,34	22	0,029	-20,5	8,7624	-38,6722	-2,3278
	Equal variances not assumed			-2,34	16,65	0,032	-20,5	8,7624	-39,0168	-1,9832

8 vs 26

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper	
3.pv	Equal variances assumed	7,737	0,011	0,208	21	0,839	2,447	11,9001	-22,3007	27,1946
	Equal variances not assumed			0,209	19,34	0,836	2,447	11,6971	-22,0062	26,9001
4.pv	Equal variances assumed	0,463	0,503	0,418	22	0,68	4,5	10,7578	-17,8103	26,8103
	Equal variances not assumed			0,418	21,107	0,68	4,5	10,7578	-17,8651	26,8651
5.pv	Equal variances assumed	0,996	0,329	-0,666	22	0,512	-6,4167	9,6306	-26,3894	13,5561
	Equal variances not assumed			-0,666	21,998	0,512	-6,4167	9,6306	-26,3895	13,5562
6.pv	Equal variances assumed	0,207	0,654	0,365	22	0,719	2,75	7,5379	-12,8827	18,3827
	Equal variances not assumed			0,365	20,817	0,719	2,75	7,5379	-12,9344	18,4344
7.pv	Equal variances assumed	0,355	0,557	-0,22	22	0,828	-1,25	5,6737	-13,0166	10,5166
	Equal variances not assumed			-0,22	21,976	0,828	-1,25	5,6737	-13,0174	10,5174

12 vs 17

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper	
3.pv	Equal variances assumed	5,239	0,034	-0,862	19	0,4	-7,8455	9,1062	-26,905	11,2141
	Equal variances not assumed			-0,833	12,138	0,421	-7,8455	9,4193	-28,3424	12,6515
4.pv	Equal variances assumed	0,512	0,482	-1,235	21	0,23	-9,7727	7,9112	-26,2251	6,6796
	Equal variances not assumed			-1,237	20,929	0,23	-9,7727	7,8994	-26,2038	6,6583
5.pv	Equal variances assumed	0,597	0,448	-0,883	21	0,387	-8,6136	9,7516	-28,8931	11,6659
	Equal variances not assumed			-0,885	20,97	0,386	-8,6136	9,728	-28,8459	11,6186
6.pv	Equal variances assumed	0,834	0,371	-0,855	22	0,402	-7,5833	8,871	-25,9806	10,8139
	Equal variances not assumed			-0,855	21,851	0,402	-7,5833	8,871	-25,9878	10,8212
7.pv	Equal variances assumed	0,833	0,371	-1,029	22	0,315	-10,6667	10,3694	-32,1716	10,8382
	Equal variances not assumed			-1,029	21,408	0,315	-10,6667	10,3694	-32,2061	10,8728

12 vs 22

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
3.pv	Equal variances assumed	0,514	0,482	0,534	19	0,6	5,7909	10,8522	-16,9231	28,5049
	Equal variances not assumed			0,528	17,373	0,604	5,7909	10,9659	-17,3074	28,8892
4.pv	Equal variances assumed	0,279	0,603	1,102	22	0,282	9,5	8,6221	-8,3812	27,3812
	Equal variances not assumed			1,102	21,386	0,283	9,5	8,6221	-8,411	27,411
5.pv	Equal variances assumed	0,95	0,34	0,979	22	0,338	10,3333	10,5519	-11,5499	32,2166
	Equal variances not assumed			0,979	21,566	0,338	10,3333	10,5519	-11,5755	32,2421
6.pv	Equal variances assumed	1,815	0,192	1,473	22	0,155	15,1667	10,2992	-6,1927	36,526
	Equal variances not assumed			1,473	21,179	0,156	15,1667	10,2992	-6,2407	36,5741
7.pv	Equal variances assumed	0,014	0,906	1,053	22	0,304	11,6667	11,0839	-11,32	34,6533
	Equal variances not assumed			1,053	21,991	0,304	11,6667	11,0839	-11,3206	34,6539

12 vs 26

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
3.pv	Equal variances assumed	0,427	0,521	2,491	19	0,022	27,0636	10,8632	4,3268	49,8005
	Equal variances not assumed			2,466	17,395	0,024	27,0636	10,9757	3,9469	50,1804
4.pv	Equal variances assumed	1,83	0,19	2,833	22	0,01	24,8333	8,7653	6,6552	43,0115
	Equal variances not assumed			2,833	21,183	0,01	24,8333	8,7653	6,6144	43,0522
5.pv	Equal variances assumed	0,295	0,592	2,468	22	0,022	24	9,7244	3,8328	44,1672
	Equal variances not assumed			2,468	21,998	0,022	24	9,7244	3,8327	44,1673
6.pv	Equal variances assumed	2,916	0,102	4,752	22	0	38,0833	8,0146	21,462	54,7046
	Equal variances not assumed			4,752	19,883	0	38,0833	8,0146	21,3588	54,8079
7.pv	Equal variances assumed	7,301	0,013	3,495	22	0,002	30,9167	8,8467	12,5697	49,2636
	Equal variances not assumed			3,495	16,143	0,003	30,9167	8,8467	12,176	49,6573

17 vs 22

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
3.pv	Equal variances assumed	2,564	0,125	1,786	20	0,089	13,6364	7,6358	-2,2917	29,5644
	Equal variances not assumed			1,786	15,475	0,094	13,6364	7,6358	-2,5956	29,8683
4.pv	Equal variances assumed	1,248	0,277	2,205	21	0,039	19,2727	8,7399	1,0971	37,4484
	Equal variances not assumed			2,225	20,741	0,037	19,2727	8,6602	1,2492	37,2962
5.pv	Equal variances assumed	2,584	0,123	1,787	21	0,088	18,947	10,6014	-3,0999	40,9938
	Equal variances not assumed			1,803	20,776	0,086	18,947	10,5084	-2,9208	40,8148
6.pv	Equal variances assumed	4,2	0,053	2,28	22	0,033	22,75	9,9786	2,0556	43,4444
	Equal variances not assumed			2,28	20,453	0,033	22,75	9,9786	1,9645	43,5355
7.pv	Equal variances assumed	1,231	0,279	2,18	22	0,04	22,3333	10,2457	1,085	43,5817
	Equal variances not assumed			2,18	21,541	0,041	22,3333	10,2457	1,0587	43,608

17 vs 26

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
3.pv	Equal variances assumed	3,2	0,089	4,563	20	0	34,9091	7,6499	18,9517	50,8665
	Equal variances not assumed			4,563	15,453	0	34,9091	7,6499	18,6453	51,1729
4.pv	Equal variances assumed	3,585	0,072	3,891	21	0,001	34,6061	8,8946	16,1088	53,1033
	Equal variances not assumed			3,931	20,603	0,001	34,6061	8,8028	16,2782	52,9339
5.pv	Equal variances assumed	1,789	0,195	3,364	21	0,003	32,6136	9,6961	12,4495	52,7778
	Equal variances not assumed			3,37	20,951	0,003	32,6136	9,6773	12,4858	52,7415
6.pv	Equal variances assumed	0,24	0,629	6,01	22	0	45,6667	7,5982	29,909	61,4243
	Equal variances not assumed			6,01	20,701	0	45,6667	7,5982	29,8515	61,4818
7.pv	Equal variances assumed	2,417	0,134	5,351	22	0	41,5833	7,7708	25,4676	57,699
	Equal variances not assumed			5,351	17,817	0	41,5833	7,7708	25,2454	57,9213

22 vs 26

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
3.pv	Equal variances assumed	0,008	0,93	2,242	20	0,036	21,2727	9,4894	1,4781	41,0674
	Equal variances not assumed			2,242	20	0,036	21,2727	9,4894	1,4781	41,0674
4.pv	Equal variances assumed	0,405	0,531	1,621	22	0,119	15,3333	9,4567	-4,2787	34,9453
	Equal variances not assumed			1,621	21,983	0,119	15,3333	9,4567	-4,2796	34,9462
5.pv	Equal variances assumed	0,462	0,504	1,301	22	0,207	13,6667	10,5051	-8,1196	35,4529
	Equal variances not assumed			1,301	21,503	0,207	13,6667	10,5051	-8,1488	35,4822
6.pv	Equal variances assumed	9,916	0,005	2,484	22	0,021	22,9167	9,2257	3,7838	42,0495
	Equal variances not assumed			2,484	17,718	0,023	22,9167	9,2257	3,5121	42,3212
7.pv	Equal variances assumed	10,398	0,004	2,212	22	0,038	19,25	8,7014	1,2044	37,2956
	Equal variances not assumed			2,212	16,335	0,042	19,25	8,7014	0,8346	37,6654

4.6 Liite: Siemenlaimennosten elävydet eri lämpötiloissa

8°C

Lähtö- arvo	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
M File	80	1	0	0									
M Huvitus	80	1	20	20	5	5	1	1					
Y Toimi	75	5	30	5	5	1	0						
Y Timmi	75	1	0										
M Kalava	70	75	80	10	5	2	1						
M Nasse	75	60	60	65	60	50	40	40	5	5	10	1	5
Y Sote	75	1	1	0									
Y Tarkka	75	1	0										
M Kiiwi	65	80	60	25	10	1							
M Molke	75	40	40	65	50	5							
Y Kimuli	75	60	30	20	5	1							
Y Suksi	75	60	65	10	1	1							
ka	75	32	32	22	18	8	11	21	5	5	10	1	5
khaj	4	33	29	24	23	17	20	28					
min	65	1	0	0	1	1	0	1	5	5	10	1	5
maks	80	80	80	65	60	50	40	40	5	5	10	1	5

12°C

Lähtö- arvo	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
M File	80	2	10	5	10	10	20	10	10	1	5	1	0
M Huvitus	80		50	60	70	80	70	70	50	30	30	50	30
Y Toimi	75	60	70	80	60	40	30	30	5	10	0		
Y Timmi	75		60	60	60	40	20	10	1	0			
M Kalava	70	80	70	80	80	70	80	60	60	70	60	50	40
M Nasse	75	80	70	70	60	50	50	50	60	40	50	50	60
Y Sote	75	20	30	30	20	1	5	1	0				
Y Tarkka	75	40	50	30	30	20	30	1	1	0			
M Kiiwi	65	80	70	60	65	70	50	30	40	30	20	30	10
M Molke	75	60	35	20	20	1	5	20	10	10	10	10	1
Y Kimuli	75	70	50	40	40	20	20	10	10	30	1	10	1
Y Suksi	75	75	65	50	50	50	10	5	0	1			
ka	75	57	53	49	47	38	33	25	21	20	22	29	20
khaj	4	27	19	24	23	27	25	24	24	22	23	22	24
min	65	2	10	5	10	1	5	1	0	0	0	1	0
maks	80	80	70	80	80	80	80	70	60	70	60	50	60

17°C

Lähtö- arvo	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
M File	80				60	50	60	50	50	30	50	20	5
M Huvitus	80	50	70	75	75	70	80	80	60	50	60	50	60
Y Toimi	75	60	70	60	70	50	30	20	5	20	5	1	0
Y Timmi	75	70	75	70	70	65	30	10	50	5	20	5	5
M Kalava	70	80	80	80	70	70	60	70	60	70	60	30	60
M Nasse	75	70	70	65	50	30	5	5	1	5	1	1	1
Y Sote	75	50	60	60	60	60	60	20	20	5	10	5	1
Y Tarkka	75	60	60	60	60	50	50	40	50	30	20	10	10
M Kiiwi	65	80	70	70	60	65	50	60	40	40	25	20	1
M Molke	75	50	10	1	1	0							
Y Kimuli	75	60	60	30	30	10	5	20	1	5	1	10	5
Y Suksi	75	80	60	60	50	60	30	50	1	1	10	5	1
ka	75	65	62	57	55	48	42	39	31	24	24	14	15
khaj	4	12	19	23	21	23	24	25					
min	65	50	10	1	1	0	5	5	1	1	1	1	0
maks	80	80	80	80	75	70	80	80	60	70	60	50	60

22°C

Lähtö- arvo	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
M File	80												
M Huvitus	80	65	70	70	70	60	60	60	20	1	0		
Y Toimi	75	20	20	5	1	1	0						
Y Timmi	75	50	50	50	50	10	0						
M Kalava	70	50	50	25	20	5	1	0					
M Nasse	75	30	5	5	1	1	0						
Y Sote	75	60	60	65	60	50	60	30	1	0			
Y Tarkka	75	60	50	40	40	20	5	0					
M Kiiwi	65	75	70	60	60	60	1	0					
M Molke	75	10	1	1	0								
Y Kimuli	75	60	40	10	1	30	1	0					
Y Suksi	75	80	50	60	20	5	0						
ka	75	51	43	38	32	28	17	20	24	14	3	0	
khaj	4	22	23	28	28	27	28	26					
min	65	10	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
maks	80	80	70	70	70	70	60	60	50	40	5	0	0

26°C

Lähtö- arvo	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
M File	80												
M Huvitus	80	40	60	60	30	40	10	0	1	0			
Y Toimi	75	1	1	1	0								
Y Timmi	75	20	40	40	5	0							
M Kalava	70	50	20	10	1	1	0						
M Nasse	75	20	5	1	0								
Y Sote	75	65	60	40	20	10	5						
Y Tarkka	75	30	30	40	0								
M Kiiwi	65	60	50	50	1	0							
M Molke	75	0	1	0									
Y Kimuli	75	10	10	5	1	0							
Y Suksi	75	30	5	0									
ka	75	30	28	25	11	12	14	15	1	0			
khaj	4	22	23	24	17	17	18	21					
min	65	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
maks	80	65	60	60	50	40	40	30	1	0	0	0	0

4.7 Liite 3: Faban seuranta

Faban Figenille tekemät elävyyden seurannat puhtaista siemenannokista

Näytteet ajalta 27.5.-
5.11.2015

	Karjun nimi	Rotu	Pvm	Motiliteetti	Ikä
1.	PUKIN	M	27.5.	80	7
2.	MUTKA	M	27.5.	85	7
3.	FILE	M	8.6.	65	8
4.	PALAVA	M	8.6.	65	8
5.	LAITON	M	8.6.	55	8
6.	MATJES	M	8.6.	55	8
7.	PUKIN	M	5.7.	60	8
8.	VALMIS	M	6.7.	60	7
9.	MATJES	M	6.7.	55	7
10.	MUTKA	M	7.7.	65	8
11.	DUPPO	M	7.7.	30	8
12.	MUTER	M	8.7.	60	7
13.	HAKO	M	8.7.	65	7
14.	LAUSE	M	8.7.	20	7
15.	ROTU	M	17.8.	70	7
16.	VALMIS	M	17.8.	65	7
17.	DUPPO	M	18.8.	70	6
18.	MUTKA	M	18.8.	80	6
19.	RUPI	M	18.8.	50	6
20.	RUPI	M	31.8.	60	7
21.	SAHA	M	31.8.	60	7
22.	HALUKAS	M	31.8.	55	7
23.	MUTKA	M	31.8.	55	7
24.	PURKKI	M	1.9.	60	6
25.	HAKO	M	1.9.	55	6
26.	DUPPO	M	1.9.	55	6
27.	MISSU	M	1.9.	50	6
28.	LAUSE	M	1.9.	60	6
29.	MATTO	M	6.9.	60	8
30.	KAURA	M	6.9.	65	8
31.	SAHA	M	7.9.	60	7
32.	MUSE	M	7.9.	50	7
33.	RUPI	M	7.9.	65	7
34.	HALUKAS	M	7.9.	60	7
35.	MUTKA	M	7.9.	60	7

36.	RUPI	M	14.9.	60	7
37.	SAHA	M	14.9.	60	7
38.	LAUSE	M	15.9.	65	6
39.	HAKO	M	15.9.	60	6
40.	KROPSU	M	16.9.	60	8
41.	INTTU	M	17.9.	50	7
42.	BARBIE	M	17.9.	60	7
43.	MUTKA	M	21.9.	60	7
44.	LAUSE	M	22.9.	65	6
45.	HAKO	M	22.9.	50	6
46.	DUPPO	M	22.9.	55	6
47.	MISSU	M	22.9.	55	6
48.	MOLKE	M	23.9.	60	8
49.	JERRI	M	23.9.	55	8
50.	DYNO	M	23.9.	55	8
51.	KAURA	M	27.9.	55	8
52.	MAASSA	M	27.9.	60	8
53.	RUPI	M	28.9.	60	7
54.	SAHA	M	28.9.	60	7
55.	DUPPO	M	29.9.	55	6
56.	LAUSE	M	29.9.	65	6
57.	VALMIS	M	29.9.	60	6
58.	DYNO	M	30.9.	65	8
59.	KIERRE	M	30.9.	65	8
60.	BARBIE	M	1.10.	60	7
61.	MUTKA	M	5.10.	55	7
62.	MISSU	M	6.10.	55	6
63.	LAUSE	M	6.10.	55	6
64.	HAKO	M	6.10.	55	6
65.	DUPPO	M	6.10.	50	6
66.	MOLKE	M	7.10.	50	8
67.	KIERRE	M	7.10.	55	8
68.	PUKIN	M	8.10.	60	7
69.	SAHA	M	26.10.	55	7
70.	DUPPO	M	27.10.	60	6
71.	MOLKE	M	28.10.	60	7
72.	KIERRE	M	28.10.	60	7
73.	DYNO	M	28.10.	60	7
74.	PUKIN	M	29.10.	60	7
75.	INTTU	M	29.10.	60	7
76.	BARBIE	M	29.10.	55	7
77.	JERRI	M	29.10.	45	7
78.	MUTKA	M	2.11.	60	7
79.	MATTO	M	2.11.	55	7
80.	KROPSU	M	2.11.	60	7

81.	DUPPO	M	3.11.	60	6
82.	LAUSE	M	3.11.	55	6
83.	MOLKE	M	4.11.	30	7
84.	KIERRE	M	4.11.	50	7
85.	DYNO	M	4.11.	60	7
Keskiarvo				58,12	6,94
Keskihajonta				8,81	
Minimi				20	6
Maksimi				85	8
1.	HAULI	Y	27.5.	70	7
2.	TULI	Y	27.5.	75	7
3.	JUMELI	Y	27.5.	75	7
4.	NEKKUS	Y	28.5.	80	7
5.	POSSE	Y	28.5.	70	7
6.	HERA	Y	28.5.	75	7
7.	SUKI	Y	28.5.	50	7
8.	SUMI	Y	8.6.	60	8
9.	SOPPA	Y	8.6.	55	8
10.	SPEKTI	Y	8.6.	60	8
11.	TIKARI	Y	8.6.	60	8
12.	HELMI	Y	5.7.	55	8
13.	TUTTU	Y	5.7.	50	8
14.	SIPPI	Y	5.7.	55	8
15.	PEHKU	Y	6.7.	65	7
16.	JUTRO	Y	6.7.	10	7
17.	HAULI	Y	7.7.	65	8
18.	POSSE	Y	8.7.	10	7
19.	HERA	Y	8.7.	60	7
20.	TIKARI	Y	17.8.	60	7
21.	JUTRO	Y	17.8.	75	7
22.	POPPAA	Y	17.8.	60	7
23.	NEKKUS	Y	18.8.	40	6
24.	HAULI	Y	18.8.	60	6
25.	TULI	Y	18.8.	30	6
26.	HAULI	Y	31.8.	55	7
27.	TIKARI	Y	31.8.	50	7
28.	NEKKUS	Y	31.8.	55	7
29.	RULLA	Y	31.8.	40	7
30.	TALJA	Y	31.8.	55	7
31.	KARRI	Y	1.9.	40	6
32.	PEHKU	Y	1.9.	55	6
33.	HERA	Y	1.9.	45	6
34.	VEIVARI	Y	1.9.	45	6
35.	SUKI	Y	6.9.	65	8

36.	POPPAA	Y	6.9.	60	8
37.	JUTRO	Y	6.9.	10	8
38.	SAITURI	Y	7.9.	55	7
39.	HAULI	Y	7.9.	55	7
40.	TALJA	Y	7.9.	55	7
41.	TIKARI	Y	7.9.	50	7
42.	RULLA	Y	7.9.	50	7
43.	TIKARI	Y	14.9.	65	7
44.	SAITURI	Y	14.9.	55	7
45.	VEIVARI	Y	15.9.	50	6
46.	PEHKU	Y	15.9.	65	6
47.	SOPPA	Y	16.9.	40	8
48.	TURHAKE	Y	16.9.	65	8
49.	VARVI	Y	16.9.	55	8
50.	TOIMI	Y	17.9.	60	7
51.	TIMMI	Y	17.9.	55	7
52.	HAULI	Y	21.9.	55	7
53.	RULLA	Y	21.9.	55	7
54.	TIKARI	Y	21.9.	60	7
55.	KARRI	Y	22.9.	50	6
56.	VEIVARI	Y	22.9.	50	6
57.	PEHKU	Y	22.9.	40	6
58.	TURHAKE	Y	23.9.	50	8
59.	VARVI	Y	23.9.	50	8
60.	SOPPA	Y	23.9.	60	8
61.	SUKI	Y	27.9.	60	8
62.	SAITURI	Y	28.9.	50	7
63.	RULLA	Y	28.9.	50	7
64.	KARRI	Y	29.9.	50	6
65.	POSSE	Y	29.9.	50	6
66.	PEHKU	Y	29.9.	55	6
67.	TURHAKE	Y	30.9.	50	8
68.	SOPPA	Y	30.9.	55	8
69.	VARVI	Y	30.9.	55	8
70.	TIMMI	Y	1.10.	55	7
71.	HAULI	Y	5.10.	55	7
72.	TIKARI	Y	5.10.	50	7
73.	PEHKU	Y	6.10.	50	6
74.	VEIVARI	Y	6.10.	50	6
75.	KARRI	Y	6.10.	60	6
76.	POSSE	Y	6.10.	65	6
77.	VARVI	Y	7.10.	60	8
78.	SOPPA	Y	7.10.	60	8
79.	TOIMI	Y	8.10.	45	7
80.	TIMMI	Y	8.10.	55	7

81.	TALJA	Y	26.10.	55	7
82.	POSSE	Y	27.10.	65	6
83.	TURHAKE	Y	28.10.	55	7
84.	VARVI	Y	28.10.	60	7
85.	TIMMI	Y	29.10.	55	7
86.	RULLA	Y	2.11.	50	7
87.	TIKARI	Y	2.11.	40	7
88.	TALJA	Y	2.11.	60	7
89.	HAULI	Y	2.11.	50	7
90.	PEHKU	Y	3.11.	45	6
91.	TURHAKE	Y	4.11.	60	7
92.	VARVI	Y	4.11.	60	7
Keskiarvo				54,13	7,02
Keskihajonta				11,81	
Minimi				10	6
Maksimi				80	8