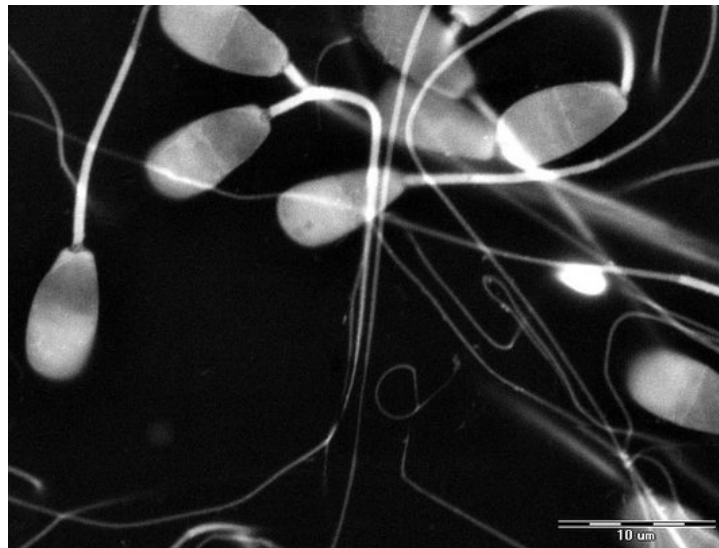




Användning av könssorterad sperma i nötkreatursaveln



”Bovine sperm”

Använd efter tillstånd av: ©Marine Reef International

Av
Davida Marby

Engelsk titel: The use of sexed semen in bovine breeding
Handledare: Freddy Fikse
Inst. för Husdjursgenetik
Examinator: Hossein Jorjani

Husdjursvetenskap - Examensarbete 15hp
Litteraturstudie
SLU, Uppsala 2009

Sammanfattning

Nästan lika länge som man avlat på nötkreatur har man velat ha en högre andel av antingen det ena eller det andra könet. I mjölkkrasbesättningar är kvigor mycket mer värdefulla emedan hos köttraser tjurar värderas högre. Sperman sorteras baserat på skillnaden i DNA innehåll mellan X- och Y-kromosomen i sperman, där X-kromosomen innehåller mellan 3,70- 4,22% mer genetiskt material beroende på ras. Den metod som har fått störst kommersiell genomslagskraft är flödescytometrin som är en metod under ständig förbättring. Det existerar skillnader i fertilitet hos spermier mellan raser, men ingen skillnad i precision av sorteringen. Med osorterad sperma kan det på kvigor erhållas en konceptionsfrekvens mellan 55 till 60% och en frekvens på 35 till 40% för sorterad. Trots oron att tekniken för sortering av sperma skadar DNA:t, och därmed orsakar defekter på avkomman, har man i litteraturen aldrig funnit belägg för detta. Det genetiska framsteget beräknas öka med mellan 0,4 till 1,4% i och med användningen av sorterad sperma. För högsta ekonomiska vinning bör kvigor insemineras med sorterad sperma och inte inkalvade kor, eftersom kvigor har högre fertilitet. Det är dyrare med sorterad sperma än osorterad och antalet spermier per dos jämfört med konventionell sperma är lägre. Många av de etiska aspekter som existerar med sorterad sperma talar för dess användande. Dessa inkluderar färre fall av kalvningssvårigheter, ökad biologisk säkerhet för besättningar och högre biologisk effektivitet.

Abstract

Almost for as long as there has been breeding on bovine species, there has been a wish to have a higher proportion of offspring of either one or the other gender. In dairy cattle, heifers are more valuable, while in beef stock bulls are preferred. Semen is sorted based on the difference in DNA content between the X- and Y-chromosome in the genome of the sperm. X-chromosomes contain on average between 3,70 to 4,22% more genetic material than the Y-chromosome. Commercially it is the method of flow cytometry that is being used, which is always under improvement. There are differences in fertility between breeds, but there are no differences in precision of sorting between breeds. With unsorted sperm a 55 to 60% conception rate can be achieved on heifers, whereas with sorted sperm the conception rate is between 35 to 40%. In spite of the fears that the sorting process damages DNA and causes abnormal offspring, no reports confirm this. The genetic progress has been estimated to increase with 0,4 to 1,4 percent with sexed semen. To achieve the highest possible economical gain heifers should be used for AI with sexed semen, and not cows, since heifers have higher fertility. It is more expensive to use sorted sperm than conventional semen and the number of sperm in one dose is lower for sorted sperm. Many of the ethical aspects that exist with sorted sperm speak for its usage. These aspects include fewer cases of dystocia, increased bio security and higher biological efficiency.

Introduktion

En av de mest eftersökta metoderna för att maximera förtjänsten hos mjölkkrasbesättningar har varit att förändra könsfördelningen hos avkommorna med målet att åstadkomma en majoritet av kvigkalvar (Wheeler et al., 2006). Anledningen till att kvigor är så mycket mer värdefulla är dels att man vill ha ett stort urval för rekrytering ur egen besättning för ett snabbare avelsframsteg, och dels för att man inte vill riskera att föra in smitta utifrån i och med nyrekrytering (Borchersen & Peacock, 2009). När det gäller köttjursuppfödning är det istället mer vinstgivande att få tjurkalvar eftersom dessa är större och växer snabbare och på så sätt ger ett större slaktutbyte.

400 år före Kristus formade den grekiska filosofen Democritus hypotesen att den högra testikeln producerade pojkar och den vänstra flickor. Det har också föreslagits att sperma av det ena eller andra slaget simmar snabbare, väger mer, har högre densitet och olika elektriska laddning på ytan. Även om detta till viss del kan stämma är skillnaderna överlappande, precis som exempelvis längden på människor (Garner & Seidel, 2008).

Könskromosomernas existens rapporterades för första gången av M.F. Guyer (1910). Det var denna identifikation, tillsammans med andras liknande fynd, som gav upphov till idén att däggdjurs kön bestämdes av dessa kromatinstrukturer. Sedan denna tid har man på många olika sätt och med flera olika tekniker försökt särskilja sperma åt beroende på vilken könskromosom de bär. Den första fenotypiska skillnaden hittades först år 1970 av Barlow och Vosa. Det var det differentiella upptaget av färgen quinacrine som upptäcktes, där Y-kromosomen fluorescerade mycket starkare än alla andra kromosomer. Detta visade sig dock inte hos icke-primater (Seidel & Ganer, 2002).

Nötboskap (*Bos taurus*) har 60 kromosomer i varje somatisk cell vilket innebär att det bildas spermier med 29 kromosomer plus antingen en X- eller Y-kromosom. När man med hjälp av laboratorieutrustning separerar på sperma med olika könskromosomer är det skillnaden i mängden DNA-innehåll man sorterar efter, och sperma med en X-kromosom innehåller i genomsnitt mellan 3,70-4,22% mer DNA beroende på ras (Garner, 2006; Garner & Seidel, 2008).

Under vissa omständigheter har en sned könsfördelning kunnat observeras utan mänsklig separation av spermier bärandes på X och Y kromosomer. Hos nötdjur har man kunnat påvisa att konventionell AI (Artificiell Inseminering) eller embryotransfer resulterar i 51% hanar och IVF (In Vitro Fertilisering) i 54% av detsamma (Hasler et al., 1995). Det har enligt Skjervold & James (1979) visat sig att kor som kalvar in vid en (relativt hög) ålder på 38-40 månader får 53% tjurkalvar. I samma studie visade det sig också att väldigt god managementnivå gav högre andel tjurkalvar vid andra till femte kalvningen (ej första). God management definierades av en hög mjölkproduktion (>6500kg mjölk) i den föregående laktationen.

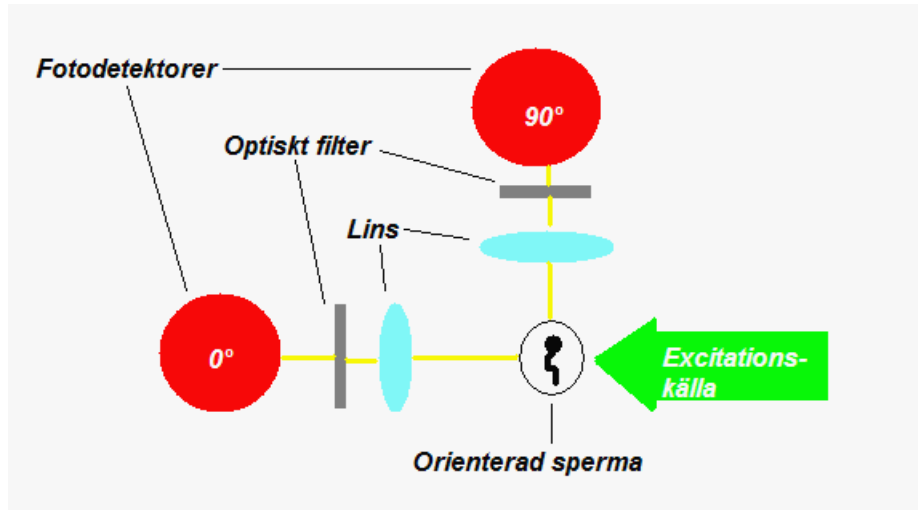
Syftet med denna litteraturgenomgång är att sammanfatta forskningen kring köns sorterad sperma. Målet är att få en ökad förståelse för hur köns sorterad sperma inom nötkreatursaveln framställs, hur den förändrar avelsplaneringen på besättnings och populationsnivå och hur hälsan hos avkommor och spermakvalitén förändras jämfört med konventionell sperma. Diskussionen kommer även att avhandla några få etiska aspekter kring sorterad sperma.

Metod för sortering

Flödescytometri

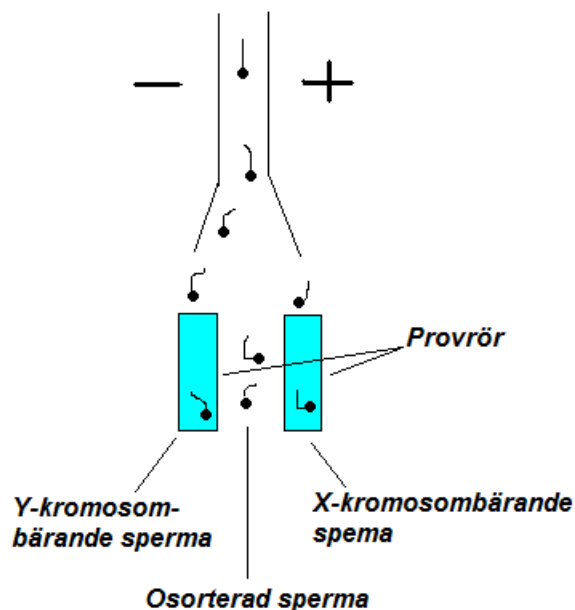
När sperman samlats upp förs den färsk och outspädd till laboratoriet där sorteringen sker. På labbet spädes sperman i ett färgningsmedium och färgas med den ljusblå fluorescerande färgen Hoechst 33342 (Seidel & Garner, 2002). Denna färg tränger igenom levande intakta cellmembran och fäster på dubbelsträngat DNA i dess "minor groove". Molekylen hålls på plats med hjälp av vätebindningar, van der Waals interaktioner och elektrostatiska interaktioner (Garner, 2009). Röd livsmedelsfärg tillsätts för identifikation av död och skadad sperma, samtidigt som ett sorteringsmedium tillsätts. Den röda livsmedelsfärgen hämmar det fluorescerande ljuset från celler som redan absorberat Hoechst 33342. I flödescytometern,

som även kallas fluorescensaktiverad cellsortering (Weigel, 2004), har spermatozon i idealfallet placerats en och en i droppar av ett orienteringsmunstycke. Därefter belyses sperman med en UV-laser av specifik våglängd beroende på ljuskälla (Figur 1). Detektorer placerade i 0° och 90° vinkel i relation till excitationsskällan mäter intensiteten av fluorescensen som uppstår vid exciteringen av Hoechst 33342 (Seidel & Garner, 2002).



Figur 1. Skiss över fluorescensdetektorer och orientering av sperma (modifierat efter Sharpe & Evans, 2009). Flödet för sperman från orienteringsmunstycket är rakt in i bilden.

Detektorerna kan endast mäta DNA-innehåll från den platta sidan av spermans huvud, och känner av den ca 4% avvikelser i DNA-innehåll mellan spermier bärandes på X- och Y-kromosomer. Olika nötkreatursraser har olika stor skillnad i DNA-innehåll i könskromosomerna. Hos holstein är genomsnittsskillnaden 4,98%, hos jersey 4,24%, angus 4,05%, hereford 4,05% och brahman (*Bos indicus*) 3,73% (Garner & Seidel 2008). Det har inte kunnat påvisas någon skillnad i precision av sorteringen mellan olika nötkreatursraser (Borchersen & Peacock, 2009). Skillnaden i DNA-innehåll kan detektorerna upptäcka i och med det upphov till olika mängd fluorescerande ljus som uppstår då olika mängd fluorescens bundit till DNA:t, och X-bärande spermier fluorescerar således mest. Denna differens är ej synbar för ögat vid mikroskopering. Droppar innehållande sperma med Y-kromosom erhåller en positiv laddning av maskinen, och de med X-kromosom en negativ laddning. Dropparna förflyttas sedan över elektriskt laddade fält där de positivt laddade Y-kromosomerna kommer att attraheras av det negativa fältet och de negativt laddade X-kromosomerna attraheras av det positiva fältet. Sperman samlas i var sitt provrör innehållandes ett medium med äggula. Sperma som inte kunnat sorteras av olika orsaker bär ingen laddning och kommer således att förkastas i området mellan provrören (Seidel & Garner, 2002). Detta händelseförlopp är åskådligt i Figur 2.



Figur 2. Sortering av sperma med hjälp av elektrisk laddning i flödescytometern.

Då sorteringen slutförts koncentreras sperman genom centrifugering och supernatanten kastas. Oftast kryopreserveras (frysas) sperman fram tills att den används (Seidel & Garner, 2002). Standard är att varje inseminationsrör av könssorterad sperma innehåller två miljoner spermier (Garner & Seidel, 2008). Från en maskin erhålls ungefär 14 rör med sperma av vardera kön per timme (Sharpe & Evans, 2009).

Precisionen hos sorteringen, och därmed könsfördelningen hos kalvar födda från könssorterad sperma, beror i hög grad på inställningar gjorda av personalen som sköter flödescytometern. Hastigheten är en funktion av precisionen i detta fall, och sätts maskinen att sortera sperma med 93% X- eller Y spermier går det långsammare än om inställningen 87% används. Går sorteringen långsammare kan färre spermier sorteras under samma tid, vilket oftast inte är önskvärt. Detta eftersom antal spermier per dos redan är lägre för sorterad jämfört med osorterad då det annars skulle bli för dyrt. En precision av sortering på upp till ca 95% kan erhållas med lägre hastigheter (Seidel, 2003).

Övriga metoder

Gradientproceduren

Tekniken bakom gradientproceduren bygger på att spermier bärandes på en Y-kromosom är mindre och kan simma nedåt i en gradient av högdensitets-serumalbumin i vertikala kolumner med högre hastighet. De första 22 procenten av sperman som når botten på gradienten samlas upp och resten kastas. Med denna metod har ett resultat mellan 70-80 % pojkar födda erhållits (Ericsson & Ericsson, 1999), men tekniken har aldrig visat sig kunna sortera sperma för andra däggdjur än människor (Evans et al., 1975).

Sortering baserat på volumetriska differenser

I teorin är spermatozoer innehållandes X-kromosomer volumetriskt större, varför man skulle kunna sortera sperma beroende på storlek utan att behöva färga dem. Genom att använda interferensmikroskopi (mäter volym med hjälp av det faktum att ljus passerar med olika

hastighet genom kroppar med olika massa) tillsammans med en flödescytometer har man kunnat separera sperma med en renhet på upp till 80% (van Munster, 2002).

Immunologiska metoder

Med hjälp av antikroppar till könsspecifika proteiner hos X-kromosomsperma har man lyckats agglutinera sperma bärandes på X-kromosomer och erhållit en spermados där hälften av sperman var sammanklumpad. Med hjälp av IVF producerades sedan embryon av den icke agglutinerade sperman och resultatet var ca 90 % hanliga embryon. Metoden har dock aldrig använts för att producera avkommor (Blecher et al., 1999).

Dessa alternativa metoder till trots är flödescytometri den metod som idag används kommersiellt för sortering av sperma. En av de förbättringar som man förväntas göra inkluderar effektivare orienteringsmunstycken, men det största hoppet ligger i att kunna sortera flera spermier parallellt istället för en och en. Detta skulle öka hastigheten, och således effektiviteten på sorteringen (Sharpe & Evans, 2009).

Spermafertilitet

Fertiliteten hos sorterad sperma är lägre eftersom motiliteten minskar och membranintegriteten sänks (Frijters et al., 2009). Det har varit oklart huruvida den lägre fertiliteten har berott på skador på sperma i sorteringsprocessen eller den lägre dos av spermier man inseminerar med jämfört med konventionell sperma. Vid konventionell AI är innehållet i en dos ca 15–20 miljoner spermier, jämfört med två miljoner då den är könssorterad (Frijters et al., 2009). I en studie av Frijters et al., (2009) gjordes en jämförelse av fertiliteten hos spermier där man ville undersöka vad som bidrog till den låga fruktsamheten till störst del; låg dos eller sorterings-skador. Undersökningen utfördes på sju holsteintjuror och är den studie som använt störst djurmateriel för denna sortens jämförelse hittills. Det visade sig att två tredjedelar av den lägre fertiliteten hos könssorterad sperma kunde förklaras av låg dos och den resterande biten av skador orsakade av flödescytometern. Dock skiljde sig resultaten åt mellan tjurarna varför man ansåg att det bästa sättet att öka fertiliteten hos sorterad sperma var att använda de mest fertila tjurarna. Fertiliteten i studien definierades som resultat av inseminering 56 dagar efter att den gjordes (NRR 56-Non return rate after 56 days). NRR56 innebär kor som inte återinseminerats, eftersom de inte uppvisat brunst inom 56 dagar efter första insemineringen, och därför antas vara dräktiga. Mellan tjurarna låg fertiliteten för konventionell sperma mellan 65,7 till 72,8% NRR56 dagar efter inseminering med 15×10^6 spermier per dos. För sorterad sperma skiljde sig fertiliteten med samma dos med 64,6 till 69,5% NRR56 dagar efter inseminering. Med den lägre dosen, 2×10^6 spermier per dos, sänktes för konventionell sperma fertiliteten med 8,6% och för sorterad sperma med 13,6% (Frijters et al., 2009).

Fertiliteten för sperma skiljer sig åt mellan raserna enligt en studie gjord i Danmark på jersey, holstein och dansk röd. Differensen i fertilitet (konceptionsfrekvens) mellan konventionell och sorterad sperma var 5% lägre än konventionell för dansk röd, 7% lägre för jersey och 12 % lägre för holstein (Borchersen & Peacock, 2009). I en studie utförd i Schweiz av Bodmer et al. (2005) på 132 kvigor och kor av mjölkras fann man att dräktighetsfrekvensen hos kvigor (vid undersökning efter 30-40 dagar efter AI) för sorterad sperma (X-kromosomsperma) var 33,3% (jämfört med 59,6 för osorterad). Antalet som kalvade efter inseminering med sorterad sperma var 29,6% för kvigor och 22,1% för kor. Från osorterad sperma var procentantalet av

de inseminerade som kalvade 57,8 för kvigor och 23,4 för kor. Könsfördelningen var för sorterad sperma 85,3% honor och för osorterad 58,6%. Den onormalt höga andelen honor från konventionell sperma kommenterades inte (Bodmer et al., 2005). Enligt Weigel (2004) ligger intervallet för konceptionsfrekvens hos kvigor mellan olika artiklar mellan 35 till 40% för sorterad sperma, och 55 till 60% för osorterad. I studien av Borchersen & Peacock (2009) skiljde sig fertiliteten (procent dräktiga kor) för sorterad sperma mellan de tre tjurarna av varje ras enligt följande; holstein 48,3-49,5%, dansk röd 55,0-61,6% och jersey 43,2-51,7%. Den lägre fertiliteten för jersey antogs bero på miljöbyte och inte lägre fertilitet.

Det bortfall av sperma som sker från det ursprungliga provet vid sortering inträffar till största delen på grund av felaktig orientering vid excitationskällan (se Figur 1). Andra steg som orsakar förluster är centrifugering av den sorterade sperman och då sperman fylls i inseminationsrören (Seidel & Garner, 2002). Vid sortering skadas sperman av lasern, färgningen med Hoechst 33342 och av det mekaniska slitaget av att färdas genom maskinen, där det senare orsakar den största skadan (Garner et al., 2001). I slutet av 1980-talet kunde man sortera 350000 spermier per timme jämfört med dagens ca 15-20 miljoner i timmen (Hamano, 2007).

I länder där klimatet är varmt och fuktigt har embryotransfer visat sig ge högre utslag av dräktighet hos holstein än vad AI gjort. Av denna anledning är ett möjligt användningsområde för könssorterad sperma att göra embryotransfer med embryon befruktade av sorterad sperma på holstein på dessa platser (Hansen & Block, 2004).

Hälsa hos avkommor från könssorterad sperma

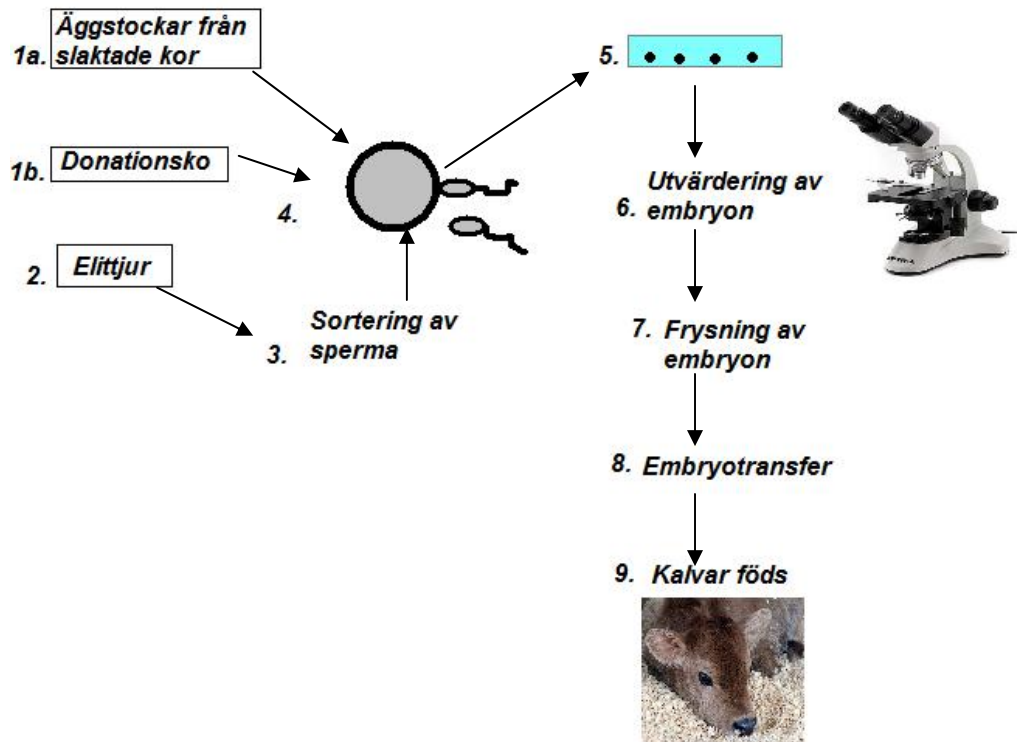
Eftersom sperman blir skadad vid sorteringen har det funnits oro över att inte kalvarna från kor som inseminerats med sorterad sperma skulle vara friska. Den största oron grundar sig i den potentiella risk UV-lasern och den DNA-bindande färgen Hoechst 33342 utgör, och det faktum att DNA potentiellt kan bli skadat av dessa (Seidel, 2007). De undersökningar som gjorts visar däremot att inga abnormaliteter kunde påvisas. Det fanns således ingen signifikant skillnad i medfödda defekter mellan kalvar producerade från konventionell eller sorterad sperma (Seidel & Garner, 2002).

En studie som utfördes av Tubman et al. (2004) undersökte skillnaden mellan konventionellt och könssorterat producerade kalvar. Studien innefattade 1169 kalvar från sorterad sperma och 793 konventionella kalvar. Könsfördelningen vid födseln var från osorterad sperma 49,2% för hanar. Från sorterad sperma var den sorterad med en noggrannhet på 87,8% för honor och 92,1% för hanar. Det fanns ingen signifikant skillnad mellan kalvar från osorterad och sorterad sperma när det gällde dräktighetstid, födelsevikt, kalvningssvårigheter, avvänjningsvikt, aborter, neonatal död, eller antal döda kalvar vid avvänjning. Inte heller har avkomma från djur som producerats med sorterad sperma uppvisat några defekter (Tubman et al., 2004). Samma slutsats att avkommor från sorterad sperma inte uppvisar några defekter har flera andra författare kommit till, både när det gäller nötkreatur och andra arter (Morrell & Dresser, 1989; Johnson, 1995; Catt et al., 1997; Seidel et al., 1999).

In vitro fertilisering och MOET

För att överkomma den negativa aspekten med den låga fertiliteten hos könssorterad sperma kan man använda den till IVF. Som nämnt tidigare används ca 2 miljoner spermier per insemineringsdos vid AI, men vid IVF räcker det med 1000 vilket gör detta till en bra metod

för att maximera nyttan med könssorterad sperma. Proceduren för IVF är överskådligt illustrerad i figur 3 (Xu et al., 2009).



Figur 3. Illustration av IVF med könssorterad sperma. Antingen tas ägg från äggstockar på slaktade kor (1a), eller en donatoroko (1b.) Spermia från elittjurar samlas upp (2.) och sorteras (3.) i en flödescytometer. Äggen får mogna in vitro och fertiliseras sedan med den sorterade sperman (4.). Embryona får mogna in vitro i ca 7 dagar (5.). Därefter utvärderas blastocysterna morfologiskt (6.) och fryses sedan (7.). På gården sker sedan en embryotransfer (8.) på mottagarkon och ca 9 månader senare föds kalven (9.) (modifierat efter Xu et al, 2009).

Av de ägg som fertiliseras kan man efter in vitro mognad av embryon få över 30 % dugliga blastocyster (tidigt stadium av embryo), in vitro överlevnaden har varit över 90 % och dräktighetsfrekvensen över 40 % (Xu et al., 2009).

En annan reproduktionsmetod man kan använda sorterad sperma i är MOET (Multiple Ovulation and Embryo Transfer). Här hormonbehandlas korna för att producera flertalet ägg, varpå man använder sig av AI, och i detta fall sorterad sperma. Efter AI bildas embryon i kons livmoder varpå det utförs sk. flushing där embryona sköljs ut och sedan kan implanteras i andra mottagarkor (Montaldo et al., 1998)

Avelsplanering och ekonomi på besättnings- och populationsnivå

Användning av könssorterad sperma ger möjlighet till snabbare expansion av besättningar då man får fler kvigkalvar. Det genetiska framsteget blir också snabbare eftersom det finns en möjlighet att selektera mer intensivt på korna och inte bara få ett genetiskt framsteg genom selektion av tjurar (Seidel, 2003). Hittills har 90-92% av det genetiska framsteget i mjölkproduktion kommit från selektion av tjurar (De Vries et al., 2008). Detta beror på att selektionsintensiteten hos hanar är mycket större då bara ca 0,1% av alla tjurkalvar som föds per år används som avelstjurar (De Vries et al., 2008). Det genetiska framsteget förväntas dock inte öka stort med den ökade selektionen av kor (Weigel, 2004). Säkerheten för

estimeringen av det genetiska framsteget är mycket lägre för kor än för tjurar och prövade tjurar har mer information från flera döttrar vilket kor sällan har (De Vries et al., 2008). I början beräknades det genetiska framsteget öka med 15% vid användning av sorterad sperma (Van Vleck, 1981), men detta visade sig senare vara överskattat. Med MOET beräknade Montaldo et al. (1998) att man skulle kunna få en ökning på det genetiska framsteget med mellan 0,4 -1,4%. Inavel kommer enligt Seidel (2003) att fortsätta vara ett problem i besättningar, även när man börjar avla med sorterad sperma. Däremot spekulerar han att den ökade kostnaden hos denna sperma kan göra lantbrukare mer uppmärksamma på problemen med inaveln och kanske sätta mer fokus på detta i sitt avelsprogram (Seidel, 2003).

För högre ekonomisk vinning kan man inseminera den del av besättningen med lägre genetiskt värde, som man inte inseminerar med X-kromosomsperma, med Y-kromosomsperma från kötttraser. Dessa kalvar är större och växer bättre vilket betingar ett högre pris (Seidel, 2002). Korsningar mellan holstein och charolais är en vanlig korsning för detta ändamål (Seidel, 2007). Avelsföretag kan även kontraktera en bonde att använda Y-sperma för produktion av tjurkalvar av de bästa korna i mjölkaveln (Seidel, 2007). Effektiviteten vid avkommeprövningen blir högre då man kan använda det lägsta antalet kor för att få fram kalvar från de tjurar man vill testa (Seidel, 2003).

För att öka kostnadseffektiviteten kan sorterad sperma användas på kvigor, och osorterad sperma på dem efter deras första kalvning. Detta har visat sig ge ett utslag på upp till 62% kvigkalvar vid första kalvning (Moore & Thatcher, 2006). Ett annat kostnadseffektivt sätt är att använda IVF med sorterad sperma då hundratusen spermier kan befrukta hundra ägg, istället för två miljoner spermier till ett ägg som vid AI (Moore & Thatcher, 2006). Kostnaden på kvigkalvar från mjölkproduktion förväntas minska om könssorterad sperma blir vanligare, eftersom tillgången kommer att bli större (De Vries et al., 2008). Då det inom mjölkproduktionen kommer att produceras mer kvigor, kommer många inte att ha plats att föda upp dessa, varför en ökad specialisering som går ut på att föda upp endast kvigor att utvecklas. Denna övergång kommer att stöttas av det minskade antal tjurkalvar som föds (De Vries et al., 2008). Enligt De Vries et al. (2008) förväntas mjölkpriset gå ner om många börjar använda könssorterad sperma eftersom det förmodligen kommer ske en ökning av antalet mjölkande kor.

Det är bra för hälsan hos besättningen att rekrytera inom gruppen då man slipper få in nya sjukdomar (Borchersen & Peacock, 2009). Eftersom kvigkalvar väger ca 2kg mindre vid födseln leder detta till färre fall av kalvningssvårigheter vilket bidrar till lägre arbetsinsats för lantbrukaren och ett ringare ekonomisk bortfall (Seidel 2007). Färre fall av dystoci ger också lägre veterinärkostnader och högre mjölkproduktion (Seidel, 2003).

Negativa ekonomiska aspekter med användandet av könssorterad sperma inkluderar högre kostnad för sperman och utökade kostnader för dräktighetsdiagnostik och brunstkontroll på grund av lägre konceptionsfrekvenser (Hohenboken, 1999; Weigel, 2004). Dessutom blir det ett potentiellt ekonomiskt bortfall som beror på den lägre mjölkproduktionen som eventuellt uppstår hos kor som föder en kvigkalv jämfört med en ko som föder en tjurkalv. Denna lägre produktion sägs bero på positiv korrelation mellan födslovikt och mjölkproduktion (Hohenboken, 1999).

I besättningar med renrasiga köttdjur används oftast inte AI, varför könssorterad sperma just nu inte är aktuellt för dessa besättningar. Trots detta behandlas användandet av sorterad sperma på dessa besättningar och dess inverkan i artiklar (Seidel, 2003).

Seidel (2003) satte upp olika antaganden i en beräkning för hur mycket mer könssorterad sperma i mjölkproduktion fick kosta jämfört med konventionell utan att göra det olönsamt. Det antogs att inseminering med konventionell sperma kostade 30 dollar på en kviga. En könsfördelning med 90% kvigkalvar antogs också där kvigor var värda 180, 208 eller 380 dollar och en tjurkalv 80 dollar. Vid hög fertilitet (54% dräktiga av sorterad sperma) fick en dos sorterad sperma kosta 7,11 dollar mer om en kvigkalv var värd 180 dollar. Var fertiliteten låg (36% dräktighet av sorterad sperma) fick dosen endast kosta 1,27 dollar mer om kvigkalvar var värda 180 dollar. Var en kvigkalv istället värd 380 dollar höjdes gränsen för hur mycket mer sorterad sperma kunde kosta; vid hög fertilitet 43,52 dollar och vid låg 25,46 dollar (Seidel, 2003). I Sverige kan en dos könssorterad sperma kosta omkring dubbelt så mycket som en dos konventionell för lantbrukaren. Ett exempel är en tjur, Zenith, vars sperma kostar 220 kr som konventionell dos, men 500kr som sorterad (Skånesemin, 2009).

Diskussion

Det verkar som att eftersom flödescytometri är den sorteringsmetod som fått störst kommersiell framgång är man ovillig att forska fram nya metoder, speciellt om dessa nya metoder initialt inte ger goda resultat. Denna slutsats kan dras ifrån att flertalet nyare artiklar behandlar just flödescytometrin (Seidel & Garner, 2002; Garner & Seidel, 2008; Sharpe & Evans, 2009; Seidel, 2009). Desto bättre och effektivare sorteringen blir, och då fler studier utförs blir den sorterade sperman säkerligen billigare, vilket i sin tur kan leda till att fler börjar använda denna metod. Då man avlat för fertilitet på SRB längre än hos holstein kan man tänka sig att genomslagskraften för användning av sorterad sperma i dessa besättningar blir större, om det visar sig mer effektivt på denna boskap än på holstein. Detta påstående kan styrkas av det fynd som gjordes i studien av Borchersen & Peacock (2009) där dansk röd hade högst fertilitet. Eftersom andra länder såsom USA fått upp ögonen för hur bra de nordiska röda raserna är finns det en möjlighet att det även börjar exporteras könssorterad sperma från dessa raser.

Att det först antogs att det genetiska framsteget per år var så högt som 15% (Van Vleck, 1981) kan ha inverkat positivt på intresset för könssorterad sperma. När det senare visade sig att inte framsteget var så stort som man först beräknat (Weigel, 2004) kunde man ändå se de många andra fördelarna med metoden. För att få ett ökat genetiskt framsteg skulle man kunna kombinera metoden med exempelvis genomisk selektion. Eftersom man beräknar att få ett litet ökat genetiskt framsteg med exempelvis sorterad sperma och MOET, skulle en kombination med genomisk selektion kunna öka framsteget ytterligare.

Det är intressant att det inte finns någon skillnad i precision av sortering mellan raser (Borchersen & Peacock, 2009). Eftersom det är olika stor skillnad i DNA-innehåll i X och Y kromosomerna mellan raserna skulle man kunna tänka sig att det skulle kunna vara en skillnad i hur väl man kan sortera sperman. I de artiklar som granskats i denna artikel har ingen vikt lagts vid skillnader i precision av sortering inom raser. Därför skulle det vara intressant att utreda en eventuell genetisk variation som ligger bakom precisionen i sorteringen hos olika raser. I den studerade litteraturen har heller ingen jämförelse mellan precisionen hos den sorterade sperman och erhållen könsfördelning gjorts. Är precisionen av sorteringen direkt relaterad till könsfördelningen hos kalvarna? Detta är en fråga som skulle kunna besvaras genom ytterligare studier.

Inom ekologisk produktion är användandet av sorterad sperma tillåtet. Eftersom ekologiska gårdar bara får köpa kvigor från andra ekologiska gårdar kommer sorterad sperma hjälpa även dessa gårdar att expandera (De Vries et al., 2008). Det kan verka underligt att sorterad sperma får användas i ekologisk produktion. Inom ekologin förespråkar man ”naturlighet”, men med tanke på alla de positiva etiska aspekter som existerar finns det nog stor möjlighet metoden fortsätter vara tillåten. Om det däremot påvisas en toxisk effekt hos Hoechst 33342 och om man i mer extensiva försök finner att DNA tar skada av sorteringen kommer det förmodligen inte fortsätta vara ekologiskt försvarbart. För att slippa eventuella problem med toxicitet skulle det behövas en ny slags färgningsmetod som är garanterat giftfri.

Ur ett etiskt perspektiv skulle det vara intressant att veta vad som faktiskt händer med Hoechst 33342 i reproduktionsorganen hos kor och andra husdjur som insemineras med könsorterad sperma. Vid inseminering finns det kvar ca 0,19 μ M Hoechst 3342 i en spermados (Garner, 2009). Eftersom denna färg anses vara skadlig för laboratoriepersonal i för stora mängder kan man anta att allt för regelbunden inseminering skulle kunna skada djuren.

Vad det gäller att kor skulle producera mindre mjölk om de får en kvigkalv behövs det göras studier om vilket som faktiskt är värt mest – att producera den extra mjölken eller att få en kvigkalv. Förmodligen är skillnaden i mjölmängd (Hohenboken, 1999) såpass marginell att detta inte spelar någon större roll. Dessutom väger vetskapen om att färre fall av kalvningssvårigheter uppkommer vid födsel av kvigkalv (Seidel, 2003) upp en eventuell lägre mjölkproduktion. För djurens välfärd är det gynnsamt att förebygga lidande på detta sätt, istället för att få extra mjölk producerad.

För att få så hög konceptionsfrekvens som möjligt med den sorterade sperman jämfört med osorterad, måste lantbrukaren vara mer noggrann med näring, allmän management, identifiering av brunst, sjukdomskontroll, spermahantering och insemineringsteknik (Seidel 2007). Även detta gör sortering av sperma etiskt försvarbart. Att slippa ta in djur utifrån till sin besättning adderar till de positiva aspekterna med sorterad sperma. Förebyggande metoder mot sjukdomar tyder på bra management och är fördelaktigt för djurens välfärd.

I en del länder avlivs tjurkalvar av mjölkkras direkt efter födseln eftersom de inte inbringar något ekonomiskt värde (Fikse, 2009). Skulle man i dessa länder använda sorterad sperma kan man undvika det etiska dilemma detta innebär. Hos andra djurslag finns det andra etiska aspekter med sortering av sperma. Hos svin skulle man exempelvis kunna slippa kastrering av hanar genom att endast föda upp honor. Kastrering av smågrisar, och det lidande för djuret detta innebär, är inte etiskt försvarbart.

Den biologiska effektiviteten sägs bli högre vid användande av sorterad sperma eftersom mer mjölk och kött kan produceras per enhet foder (Seidel, 2003). Vad som menas med detta är enligt artikeln inte helt klart men min tolkning är att eftersom man kan använda så få djur som möjligt till rekrytering, och därför inseminera med köttkras på resten av besättningen, får man maximal tillväxt på så lite foder som möjligt. När det gäller köttkrasproduktion blir den biologiska effektiviteten större då inseminering sker med Y-kromosom sperma eftersom det då fås tjurkalvar som växer bättre än kvigor.

Slutsats

Könsorterad sperma framställs kommersiellt med ca 90 % precision med hjälp av flödescytometri. Det är först och främst kvigkalvar som är önskvärt inom mjölkindustrin,

emedan tjurkalvar är en fördel i köttrasbesättningar. För att få högsta möjliga konceptionsfrekvens skall sorterad sperma användas på kvigor, då en frekvens på upp till 40 % kan erhållas. Det genetiska framsteget kommer inte att öka i hög grad med denna metod, och i MOET har den beräknats att öka med ca 0,4-1,4 %. Några grava defekter har inte kunnat upptäckas som en följd av användningen av sorterad sperma, och det finns många etiska aspekter som talar för användandet.

Referenser

- Barlow, P., Vosa, C.G. 1970. The Y chromosome in human spermatozoa. *Nature* 226, 961-962.
- Blecher, S.R., Howie, R., Li, S., Detmar, J., Blahut, L. 1999. A new approach to immunological sexing of sperm. *Theriogenology* 52, 1309-1321.
- Bodmer, M., Janett, F., Hässig, M., den Daas, N., Reichert, P., Thun, R. 2005. Fertility in heifers and cows after low dose insemination with sex-sorted and non-sorted sperm under field conditions. *Theriogenology* 64, 1647-1655.
- Borchersen, S., Peacock, M. 2009. Danish A.I. field data with sexed semen. *Theriogenology* 71, 59-63.
- Catt, S.L., Sakkas, D., Bizzaro, D., Bianchi, P.G., Maxwell, W.M.C., Evans, G. 1997. Hoechst staining and exposure to UV laser during flow cytometry does not affect the frequency of detected endogenous DNA nicks in abnormal and normal spermatozoa. *Molecular Human Reproduction* 3, 821-825.
- De Vries, A., Overton, M., Fetrow, J., Leslie, K., Eicker, S., Rogers, G. 2008. Exploring the Impact of Sexed Semen on the Structure of the Dairy Industry. *Journal of Dairy Science* 91, 847-856.
- Ericsson, R.J., Ericsson, S.A. 1999. Sex ratios. *Encyclopedia of Reproduction*. Volume 4 (eds E. Nobile, J.D. Neill), 431-437. Academic Press, London.
- Evans, J.M., Douglas, T.A., Renton, J.P. 1975. An attempt to separate fractions rich in human Y sperm. *Nature* 253, 352-354.
- Fikse, F. Maj 2009. Personligt meddelande. Forskningsledare, SLU.
- Frijters, A.C.J., Mullaart, E., Roelofs, R.M.G., van Hoorne, R.P., Moreno, J.F., Moreno, O., Merton, J.S. 2009. What affects fertility of sexed bull semen more, low sperm dosage or the sorting process? *Theriogenology* 71, 64-67.
- Garner, D.L. 2006. Flow cytometric sexing of mammalian sperm. *Theriogenology* 65, 943-957.
- Garner, D.L. 2009. Hoechst 33342: The dye that enabled differentiation of living X- and Y-chromosome bearing mammalian sperm. *Theriogenology* 71, 11-21.
- Garner, D.L., Schenk, J.L., Seidel, G.E. Jr. 2001. Chromatin stability in sex sorted sperm. *Proceedings of the VII:th International Congress of Andrology*, 3-7.
- Garner, D.L., Seidel, G.E. Jr. 2008. History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology* 69, 886-895.
- Guyer, M.F. 1910. Accessory chromosomes in man. *Biological Bulletin of Marine Biology Laboratory* 19, 219-234.
- Hamano, K. 2007. Sex preselection in bovine by separation of X- and Y-chromosome bearing spermatozoa. *Journal of Reproductive Development* 53, 27-38.
- Hansen, P.J., Block, J. Towards an embryocentric world: the current and potential uses of embryo technologies in dairy production. *Reproductive, Fertility and Development* 16, 1-14.
- Hasler, J.F., Anderson, W.B., Hurtegen, P.J., Zin, Z.Q., McCauley, A.D., Mower, S.A., Neely, B., Shuey, L.S., Stokes, J.E., Trimmer, S.A. 1995. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. *Theriogenology* 43, 141-152.

- Hohenboken, W.D. 1999. Applications of sexed semen in cattle production. *Theriogenology* 52, 1421–1433.
- Johnson, L.A. 1995. Separation of X and Y chromosome bearing sperm based on DNA differences. *Reproduction, Fertility and Development* 7, 893-903.
- Marine Reef International. April 2009. Bildkälla. <http://www.marinereef.com/gallery3/pages/image001.html>
- Montaldo, H., Keown, J.F., Van Vleck, L.D 1998. Effect of in vitro embryo production and sexed semen in dairy MOET nucleus systems. *Proceedings of 6th World Congress Genet. Appl. Livest. Prod* 25, 443–446.
- Moore, K., Thatcher, W.W. 2006. Major advances associated with reproduction in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 89, 1254-1266.
- Morrell, J.M., Dresser, D.W. 1989. Offspring from inseminations with mammalian sperm stained with Hoechst 33342 either with or without flow cytometry. *Mutation research* 224, 177-183.
- Seidel, G.E. Jr. 2003. Economics of selecting for sex: the most important genetic trait. *Theriogenology* 59, 585-598.
- Seidel, G.E. Jr. 2007. Overview of sexing sperm. *Theriogenology* 68, 443-446.
- Seidel, G.E. Jr. 2009. Sperm sexing technology – The transition to commercial application An introduction to the symposium “Update on sexing mammalian sperm”. *Theriogenology* 71, 1-3.
- Seidel, G.E. Jr., Garner, D.L. 2002. Current status of sexing mammalian spermatozoa. *Reproduction* 124, 733-743.
- Seidel, G.E. Jr., Schenk, J.L., Herickhoff, L.A., Doyle, S.P., Brink, Z., Green, R.D., Cran, D.G. 1999. Insemination of heifers with sexed spermatozoa. *Theriogenology* 52, 1407-1420.
- Sharpe, J.C., Evans, K.M. 2009. Advances in flow cytometry for sperm sexing. *Theriogenology* 71, 4-10.
- Skjervold, H., James, J. 1979. Causes of variation in sex ratio in dairy cattle. *Z Tierz Züchtungsbiol* 95, 293-305.
- Skånesemin. Maj 2009. Produktblad. http://www.skanesemin.se/dokument/lagerlista_info.pdf
- Tubman, L.M., Brink, Z., Suh, T.K., Seidel, G.E. Jr. 2004. Characteristics of calves produced with sperm sexed by flow cytometry/cell sorting. *Journal of Animal Science* 82, 1029-1036.
- van Munster, E.B. 2002. Inferometry in flow to sort unstained X- and Y chromosome bearing bull spermatozoa. *Cytometry* 47, 192-199.
- van Vleck, L.D. 1981. Potential genetic impact of artificial insemination, sex selection, embryo transfer, cloning, and selfing in dairy cattle. *New Technologies in Animal Breeding* (eds. B.G. Brackett, G.E. Seidel), 222–242. Academic Press, New York.
- Weigel, K.A. 2004. Exploring the role of sexed semen in dairy production systems. *Journal of Dairy Science* 87, 120–130.
- Wheeler, M.B., Rutledge, J.J., Fischer-Brown, A., VanEtten, T., Malusky, S., Beebe, D.J. 2006. Application of sexed semen technology to in vitro embryo production in cattle. *Theriogenology* 65, 219-227.
- Xu, J., Chaubal, S.A., Du, F. 2009. Optimizing IVF with sexed sperm in cattle. *Theriogenology* 71, 39-47.