



Kvalitetsbedömning av hingstsperma för semin

Projektnamn: Kvalitetsbedömning av hingstsperma för semin - utveckling av metodik för hantering och diagnostik
Projektledare: Heriberto Rodriguez-Martinez, SLU
År: 2006, 2007, 2008
Kontaktperson: Heriberto Rodriguez-Martinez, 018-67 21 72, heriberto.rodriguez@kv.slu.se

Bakgrund och syfte

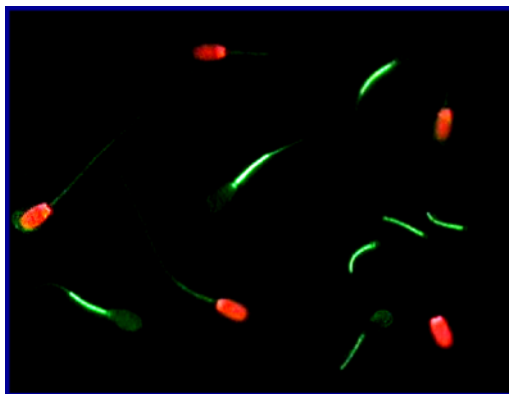
Syftet med projektet var att utvärdera olika analysmetoder för färsk, kyld samt fryst-tinad hingstsperma, inklusive en ny vid SLU framtagen teknik för spermieselektering ("Single Layer Centrifugation, SLC"). Målet var att kunna förbättra rekommendationerna vid praktisk hantering och kvalitetskontroll av hingstsperma i Sverige.

Studier och metoder

I och med att ejakulatet är heterogent, d v s har spermier med olika utseende, kvalitet och fruktsamhetsförutsättningar, har projektet fokuserat på att selektera de bästa spermierna från ejakulat innan och efter att de spätts för kylning (s k transportsperma) och/eller frysning. Tekniken som använts är en egendesignad centrifugering genom en artspezifisk kolloid lösning (Androcoll-ETM). Projektet, som genomfördes i nära samarbete med Flyinge AB samt ett par andra välkontrollerade stuterier i Mellansverige, tillämpade både rutin- och avancerade spermaanalysmetoder och protokoll, vilka senare utvärderades för rutinanvändning vid stuterierna.

Resultat

Metoden selekterade spermier med ökad livskraft och överlevnad mätt i rörlighet, utseende och funktionalitet jämfört med den spermiepopulation som fanns i ejakulatet/semindos. Metoden har även anpassats för användning i fält på stuterier med tillämpning av olika diagnostiska metoder rörande viktiga egenskaper för fruktsamhet: motilitet (rörlighet), membranduglighet och kärnans stabilitet (DNA:t). Ett nytt, förenklat datoriserat motilitetsanalyssystem samt undersökning av spermernas kärn(DNA)-integritet var, jämte morfologin, mest användbara som analysmetoder för deras indirekta samband med fertilitet. SLC-selektionsmetoden separerade befruktningsdugliga spermier från det annars heterogena ejakulatet. Denna spermieanrikning fungerade bäst hos ejakulat med sub-optimal spermabild.



Figur 2. Spermier som undersöks med hjälp av fluorescerande ämnen.

Slutsats och råd till näringen

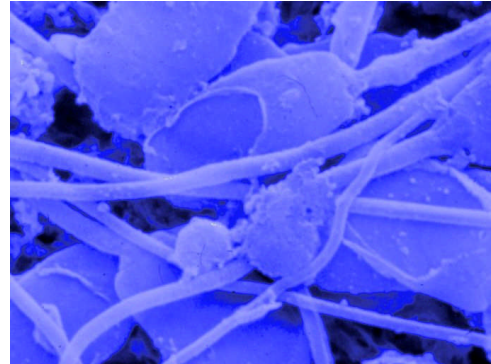
Användning av okulärbedömning kommer att kvarstå om inte de nya datoriserade motilitetsanalyserna utvecklas vidare, blir enklare, effektivare och billigare. Därefter är det morfologin som förblir nummer två, eftersom det går att analysera den med enkla metoder, för sitt samband med (rörande spermiehuvuden) kromatinintegritet, och... till



fertilitet. Dock behöver vi komma ihåg att såväl membran- som kromatinintegritet är parametrar med relevans för fruktsamhet. Metoderna för att mäta dessa är relativt enkla, väl definierade och säkra. De är billiga per prov och analyserar tusentals spermier inom en kort stund. Å andra sidan krävs det fortfarande tillgång till tekniskt avancerade instrument. Instrumenten utvecklas kontinuerligt vilket gör att för större hingststationer kan personliga flödescytometrar och inskickning av prover för analys av kromatinintegritet bli värdefull.

Selektionen av spermerna med SLC-tekniken förstärker de tydliga samband som funnits mellan kvalitet och potentiell fruktsamhet och kan därutöver göra det möjligt att separera de befruktningssugliga spermerna från det annars heterogena ejakulatet. Denna spermieanrikning fungerar bäst hos ejakulat med sub-optimal spermabild.

SLC-metoden har visat sig kunna särskilja de bästa spermerna från ett helt ejakulat. Detta är inte bara användbart för diagnostik utan även, exempelvis, för framtagning av transport av (kylda) semindoser från hingstar vars sperma är känsliga för kyla, eller för att minska antalet spermier per dos för de flesta avelshingstar, med bibehållen fruktsamhet.



Figur 2. Svepelektronmikroskopibild där man ser olika utseende på spermier.

Valda vetenskapliga artiklar hittills genererade inom projektet

- 1) Morrell JM, Dalin AM & H Rodriguez-Martinez (2008) Prolongation of stallion sperm survival by centrifugation through coated silica colloids: a preliminary study. *Animal Reprod* 5: 121-126.
- 2) Morrell JM, Johannisson A, Dalin AM, Hammar L, Sandebert T & H Rodriguez-Martinez (2008) Sperm morphology and chromatin integrity in Swedish warmblood stallions and their relationship to pregnancy rates. *Acta Vet Scand* 50: 2 (doi: 10.1186/1751-0147-50-2).
- 3) Morrell JM, Dalin AM & H Rodriguez-Martinez (2009) Comparison of density gradient and single layer centrifugation of stallion spermatozoa: yield, motility and survival. *Equine Vet J* 41: 53-58.
- 4) Morrell JM, Johannisson A, Dalin AM & H Rodriguez-Martinez (2009) Morphology and chromatin integrity of stallion spermatozoa prepared by density gradient and single layer centrifugation through silica colloids. *Reprod Domest Anim* 44: 512-517.
- 5) Morrell JM, Johannisson A, Strutz H, Dalin AM & H Rodriguez-Martinez (2009) Colloidal centrifugation of stallion semen: changes in sperm motility, velocity and chromatin integrity during storage. *J Equine Vet Sci* 29: 24-32.
- 6) Morrell JM & H Rodriguez-Martinez (2009) Biomimetic techniques for improving sperm quality in animal breeding: a review. *The Open Andrology Journal* (Open access) 1: 1-9.

Fullständig referenslista över vetenskapliga artiklar som hittills skrivits inom projektet kan beställas från forskarna.

Det här projektet har fått anslag från Stiftelsen Svensk Hästforskning. Det här är en populärvetenskaplig sammanfattning av den slutrapport som forskarna skrivit efter forskningsprojektets slut. Mer information kan fås direkt från forskarna själva eller från Stiftelsen Svensk Hästforskning, www.hastforskning.se.