

Geneettisen vaihtelun ylläpito kryovarastoissa

Perinnöllinen vaihtelu on elintärkeä pääoma kotieläinpopulaatioille, koska niiden muuttumismahdollisuudet riippuvat täysin geneettisestä vaihtelusta. Eläinkantojen muuttuminen voi olla vastausta kasvattajien tekemälle valinnalle. Vaihtelu antaa myös mahdollisuuksia mukautua tuotantoympäristön muutosten tuomaan paineeseen.

Vaihtelu riippuu eläinjoukon koosta ja isoissa populaatioissa on enemmän vaihtelua kuin pienissä. Isossakin populaatioissa voi geneettinen vaihtelu olla paljon odotettua vähäisempää, jos populaatio on sukutaustaltaan kapea. Kapeus voi johtua takavuosina olleesta yksilömäärän pienuudesta (pullonkaulasta) tai vinoutuneesta siitoseläinten käytöstä.

Geneettisen vaihtelun tilaa kuvataan tehollisen populaatiokoon avulla. Tavoitteena on tehollisen koon maksimointi ja sitä kautta populaation sukulaisuusasteen nousun, sukulaistumisen, minimointi. Riittävän vaihtelun ylläpito edellyttää hyvää suunnittelua ja koordinoitua toteutusta.

Eläimissä olevan geneettisen vaihtelun ylläpitoa voidaan varmentaa pakastevarastojen avulla. Nykyään käytetään myös termiä kryosäilöntä.

Varmuusvarastoon voidaan joutua turvautumaan, jos populaatio on ajautunut sukusiitosongelmiin, siinä on päässyt yleistymään periytyvä vika tai tauti, eläimistä on hävinnyt jokin kiinnostava piirre tai suuri osa eläimis-



Anita Lampinen

Sorjosen Veikko
Psk S 13913

tä on menetetty taudin tai odottamattoman katastrofin seurauksena.

Jos populaatio on hyvin pieni, yksi tapa vaimentaa sattuman vaikutusta, on pidentää sukupolvien väliä pakastesperman avulla. Sonnien pitkitetty käyttö pakkasvarastojen avulla vie tietysti pohjan pois valinnalta, mikä pitää arvioida sukupolven kierron hidastamisen yhteydessä.

Sperman säilytys

Keinosiemennyksellä (ks) ja sperman pakastamisella on oma historiansa. Kehitys on

täynnä sattumuksia, paljon niistä on ehkä jäänyt kirjaamattakin ja yleinen kerrottu reitti saattaa olla legendojen ketju.

Alankomaissa Van Leeuwenhoek kehitti mikroskoopin, jonka avulla tehtiin vuonna 1677 ensimmäiset havainnot siimahäntäisistä pikkuihmisistä (homunculus) tai siittiöeläimistä (spermatozoa). Leeuwenhoek ajatteli että siittiössä oli sikiö valmiina ja pelkkä kasvu riitti sen muuttumiseksi täysikokoiseksi. Siittiösolujen toimintatapojen kuvaus tehtiin vasta 1800-luvulla.

Jo 1783 tehtiin kuitenkin ensimmäinen sie-

Tietokannassa on yksityiskohtaiset tiedot sonneista ja sperma-annoksista.

Id	Species	Sex	Age	Weight	Height	Color	Markings	Genotype	Phenotype	Parental IDs	Registration
1	Bos taurus	M	1	450	140	White	None	12345	12345	67890	12345
2	Bos taurus	F	1	350	130	White	None	12346	12346	67891	12346
3	Bos taurus	M	2	600	160	White	None	12347	12347	67892	12347
4	Bos taurus	F	2	500	150	White	None	12348	12348	67893	12348
5	Bos taurus	M	3	750	170	White	None	12349	12349	67894	12349
6	Bos taurus	F	3	650	160	White	None	12350	12350	67895	12350

Suomenkarjan rotujen sperma-annokset.

suomenkarjan rotu	syntymävuosi	sonneja	sonnien jakauma sperma-annosten mukaan		
			< 200 annosta	200 – 1000	> 1000 annosta
ISK	< 1980	6	2	4	
	1980-99	22	8	12	2
	> 2000	15			20
ISK yhteensä		48 sonnia	74 500 siemenannosta		
LSK	< 1980	42	10	31	1
	1980-99	69	9	26	34
	> 2000	37		3	46
LSK yhteensä		160 sonnia	261 000 siemenannosta		
PSK	< 1980				
	1980-99	20	14	3	3
	> 2000	12		1	14
PSK yhteensä		35 sonnia	60 500 siemenannosta		

mennys, tekijänä oli Lazzaro Spallanzani ja kohde-eläimenä ensin koira, sitten sammakko ja kala. Varmaan kirjaamattomia tapauksia on ollut ennen ja jälkeen ja muillakin lajeilla. Viime vuosisadan aikana siemennystä kehitettiin eteenpäin, naudalla toimiva käyttö alkoi läntisessä Euroopassa 1930-luvulla.

Sperman säilyttämistä tutkittiin heti kun siemennys saatiin toimivaksi. Pitkäaikainen säilyttäminen onnistui parhaiten pakastamalla. Läpimurron teki vuonna 1949 Chris Polge (1926 - 2006). Polge oli pioneeri monella keinollisen lisääntymisen alalla. Sperman pakastuksessa oli ratkaisevinta glyserolin käyttö. Löytö oli sattuman kauppa, koska onnistunutta pakastuskoetta tehtäessä säilytysliuoksen teossa otettiin laboratorion jääkaapista väärä pullo!

Läpimurto tehtiin siipikarjalla, kolme vuotta myöhemmin pakastus onnistui myös naudalla ja vasta 1970 sialla. Naudan sperman pakastus tuli yleiseksi 1960-luvulla.

Keinosiemennystoiminnan kehittyminen

Vuonna 1936 esiteltiin Suomessa ensimmäisen kerran nautasiemennystä. Sodan jälkeen toi-

mintaan heräsi laaja kiinnostus ja 1950-luvun alussa toiminta kattoi jo koko maan.

Ks-toimintaa varten tehtiin laki vuonna 1949. Laki antoi puitteet sonnien pidolle ja siemenen keruulle. Jo ennen EU:hun liittymistä lisääntymisteknologian ja jalostustoiminnan oma säädöstö harmonisoitiin EU-lainsäädännön kanssa. Maailman kauppajärjestön puitteissa on asetettu selvät terveystaivutukset eläinten, sperman ja alkioiden kaupalle.

Ks-toiminta pyöri aluksi ayrshire-rodun ympärillä, nopeasti hyödyntäminen ulotettiin myös suomenkarjaan. Vuonna 1955 lehmistä siemennettiin noin 20 %, vuonna 1965 jo 80 % ja kymmenen vuotta myöhemmin 100 %.

Pakastesperman käyttö on kiihdyttänyt jalostuseläinkauppaa. Hyvin markkinoiduista roduista on tullut erittäin kansainvälisiä. Holstein-friisiläinen rantautui Ruotsista ja Tanskasta ensimmäisen kerran Suomeen vuonna 1962. Tämä jyrkensi suomenkarja-populaation alamäkeä.

Sperman pakastaminen toimii valtarotujen eduksi helpottamalla siirtelyä ja kauppa. Pakastaminen on samalla tehokas väline ylläpitää rotukirjoja ja populaatioiden sisäistä vaihtelua niin valta- kuin paikallisissa roduissa.

Suomessa omaksuttiin jalostusohjelman yhteyteen Skjervoldin ja Langholzin esittämä malli, jossa sonnilta pakastettiin riittävä määrä spermaa, noin 40 000 annosta. Määrän täytyttyä sonni teurastettiin. Kun jälkeläisarvostelun tulos oli valmis, siemenvarastosta poistettiin heikompien sonnien annokset. Tämä oli kustannustehokas tapa pakastesperman tuottamisessa.

Kun maiden välisen yhteistyön ja kaupan mukana on tullut lisää asiakkaita, on siirrytty pitämään sonnit elossa jälkeläisarvostelun valmistumiseen saakka. Nuorsonnit tuottavat jälkeläisarvosteluun riittävän siemenmäärän ja jäävät odottamaan tyttären tuloksia. Viiden – kuuden vuoden odotusajan jälkeen parhaat palaavat siementuotantoon. Tällä tavalla sonnien spermantuotannolle ei ole määrällisiä rajoja.

Alusta saakka ks-sonnit olivat ks-organisaatioiden hankkimia ja omistamia, joissakin tapauksissa sonni saattoi olla useamman yhdistyksen yhdessä omistama. Puolen vuosisadan aikana on tapahtunut monta organisaatiofuusiota. Viime vuosina on alkanut myös maiden välinen yhteistyö. Vuoden 2010 alusta kolmen maan yhteinen organisaatio VikingGenetics kattaa molemmat, jalostuksen ja keinosiemennyksen maiden sisällä ja välillä. Suomalainen osuuskunta omistaa uudesta organisaatiosta neljänneksen.

Eläinrekisterit ja uniikit numerot ovat jalostuksen ja geneettisen tilan selvittämisen lähtökohta. Kaikilla naudoilla on EU-korva-merkit ja omat tunnuksensa, kantakirjatuilla lisäksi kantakirjanumero. Vaihtelun kannalta on tärkeä varmistaa sukupuutietojen oikeellisuus. Ensin – 1950-luvun puolesta välistä lähtien – otettiin käyttöön veriryhmät. Ne korvattiin 1990-luvun keskivaiheilla DNA-merkkien käytöllä polveutumisen tarkistamisessa.

Pakastesperman hyödyntäminen vaihtelun ylläpidossa

Suomenkarjan rotujen – itäsuomenkarjan eli kyytön (ISK), länsisuomenkarjan (LSK) ja pohjoissuomenkarjan eli lapinlehmän (PSK) – vaihtelun säilyttäminen on osa kansallista eläingenivaraojelmää, joka on MTT:n koordinoima. Suomenkarjan eläimiä on ympäri

Naudan sperma voidaan säilyttää nestemäisessä työssä -196 °C:ssa hedelmöittämiskyvyn heikentymättä.



kuvat Samma Lohenoja

maata eri tiloilla, yleensä muiden rotujen joukossa. Ohjelmassa on kolme geenipankkikarjaa: lapinlehmäitä pitävä Pelson vankila, itäsuomenkarjaa pitävä Kainuun ammattiopisto ja itä- ja länsisuomenkarjaa pitävä Ahlmanin ammattiopisto. Koulujen eläimet ovat peräisin Sukevan vankilan Iskolan karjasta.

Geenipankkikarjoihin on kerätty vaihtelun kannalta ainutlaatuisia yksilöitä. Näistä karjoista on viime vuosina saatu paljon spermavarastojen täydennystä. Spermavarastoon pyritään tallentamaan kaikki tärkeät sukulinjat välttämällä päällekkäisyyttä eli sonnien läheistä sukulaisuutta.

Länsisuomenkarjaa kehitetään koko ajan jalostusohjelman avulla ja siitä on luonnollisesti suurin varasto. Alkuperäisrotujen pakastussäilytykseen alettiin kiinnittää huomiota 1980-luvulla, kun huomattiin rotujen uhanalainen tilanne. LSK:sta on huomattavasti ainesta vuotta 1980 edeltävältä ajalta, ISK:sta vain muutama sonni, kun taas kaikki lapinlehmän talletetut sonnit ovat syntyneet tämän vuoden jälkeen.

Vuonna 1984 tehty säilytysohjelman suunnitelma oli erinomainen alku. Varsinainen eläingenivaraohtelma laadittiin vuonna 2004. Ohjelmassa asetettiin tavoitteeksi saada käyttösonneille ISK:ssa ja PSK:ssa vähintään 2000 ja LSK:lle vähintään 3000 annosta. Pitkäaikaisvaraston tavoite on saada ISK:lle ja PSK:lle 25 sonnia, jokaiselle vähintään 200 annosta, LSK:n ks-sonneille vähintään 200 annosta.

Faba Palvelu hankkii kaikki LSK-sonnit ja vuosittain muutaman ISK- ja PSK-sonnin. Huomattavan osan ISK- ja PSK-sonneista hankkii ja omistaa eläingenivaraohtelma, jossa pakastussäilytyksen koordinoi MTT. Tämä on erityisesti sonniedokkaiden valintaa ja käytännön töiden järjestämistä. Pakkasvarastojen perustamisessa, lisäämisessä ja käytössä noudatetaan samoja periaatteita kuin yleensä arvioitaessa mitä yksilöitä vaihtelun säilymisen tai sukulaisuusien minimoimisen kannalta kannattaa käyttää vanhempina.

Sperman keräystä varten sonni toimitetaan testiin tai suoraan Pieksämäelle sonniasemalle. Siemenen keruu tehdään aina sonniasemalla ja sen keräämisessä noudatetaan samoja proseduureja kuin yleensä keinosiemennys-

sonneilla, samoin tehdään varastoinnissa ja tietojen hallinnassa. Sukusolujen keräämisen yhteydessä luovuttajaeläinten terveystietomukset ovat samat kuin jalostuseläimillä. Näin standardit ovat koko ketjussa varastoon saakka samat eikä tarvita kustannuksia sisältäviä erityisjärjestelyjä.

Sperman käytöstä siemennyksiin päätetään yhdessä eläingenivaraohtelman ja keinosiemennysorganisaation kanssa. Kyytöille ja lapinlehmille laaditaan vuosittain yhdessä jalostusorganisaation kanssa paritussuunnitelma käytettävistä sonneista. Suunnittelussa tarkastellaan paritusvaihtoehdot jokaiselle rekisterissä olevalle lehmälle erikseen.

Sonneista talletettujen sperma-annosten määrä on nykyään reilusti yli 1000 sonnia kohden. Sperma-annos on pakattu 0.25 ml:n olkeen, aiemmin käytettiin pillereitä. Saatu sperma talletetaan myös asemalla olevaan varastoon. Pieksämäen ohella pidetään rinnakkaisvarastoa Hollolassa. Faba Palvelu ylläpitää myös spermavaraston tietokantaa.

Tallentamisen optimointi

Spermapankin suunnittelussa arvioidaan populaation urosten sukulaisuusien kautta tulevat vaikutukset vaihteluun. Tallentamiseen otettavien sonniedokkaiden osuudesta tehdään ensin arvio. Siinä tavoitteena on minimoida osuuksilla painotettujen sukulaisuusien keskiarvo.

Kun kryopankki on jo perustettu ja siihen halutaan lisää ainesta, tarkastellaan tarjolla olevia nykysonneja, ja katsotaan sukulaisuusista, millä osuuksilla mistäkin sonnista kannattaa ottaa sperma-annoksia talteen.

Theo Meuwissen käytti EURECA-projektissa esimerkkinä itäsuomenkarjaa. Populaatiosta on eri sukupolvista sukupuutitietoja yli 9900 yksilöstä. Spermapankissa oli lisästarvetta arvioitaessa reilu 60 000 annosta. Pankki haluttaisiin laajentaa 100 000 annoksen suuriseksi, mihin on kaksi vaihtoehtoa: siivotaan käytettävissä olevasta varastosta ja sperman luovutukseen soveltuvista sonneista kokonaan uusi pankki tai laajennetaan olemassa olevaa pankkia nykysonneista.

Kartuttamalla nykypankkia reilun 70 sonnin spermalla sukulaisuusaste nousisi vähäisen

ja päädyttäisiin 4,5 %:iin, mikä on edelleen alhainen. Upouusi pankki olisi vaihtelun kannalta parempi, koska siinä päästäisiin 1,2 %:n sukulaisuusasteeseen. Pankin täydellinen uudistaminen vaatii kuitenkin 3 - 4 kertaa suuremman sonnijoukon käyttöä ja huomattavaa kustannuslisää. Johtopäätöksenä voi sanoa, että nykyinen varasto kattaa käytettävissä olevat suvut hyvin ja varaston kasvattaminen nykypolven sonneilla ei vielä yksipuolista valikoimaa.

Alkioiden käyttö

Diversiteetin elvyttämisessä on spermassa rotu vain puoliksi edustettuna, kun taas alkio sisältää rodun ehjän genotyypin ja myös tuman ulkopuolisen geneettisen materiaalin (erityisesti mitokondrion). Suomessa tehtiin ensimmäinen alkionsiirto vuonna 1979. Huippulehmien alkiontuotanto huomattiin 1980-luvulla tehokkaaksi keinoksi tehdä lehmäpuolen valinnasta yhtä merkityksellinen kuin sonnien jälkeläisarvostelu. Suomessa tätä kehityslinjaa edistämään perustettiin Alkiokeskus Oy vuonna 1986.

Chris Polgen laboratorio on kunnostautunut myös alkiopuolella. Alkioiden pakastus onnistui naudalla 1973, lampaalla 1976. Sama tutkimusryhmä onnistui monessa muussakin yrityksessä, kuten alkioiden halkaisu, koeputkihedelmöitys ja kiimojen synkronointi. MTT:ssä on omaksuttu ja viety eteenpäin mainittuja alkiomenetelmiä ja lisäksi panostettu paljon myös munasolujen poimintaan munasarjoista ASMO:n yhteydessä.

Säilytykseen tarkoitettujen alkioiden luovuttajien ja hedelmöittävien sonnien valinnassa sovelletaan taas sukulaisuusasteen minimoinnin periaatetta. Teknisen työn tekee Alkiokeskus Oy:n huuhtelutiimi. Tavallisesti huuhdeltavat lehmät ovat geenipankkikarjoissa. Alkiotiimit noudattavat huuhteluissa kansainvälisiä standardeja. Talletetut alkiot ovat eläingenivaraohtelman omistuksessa ja ne säilytetään Pieksämäen ks-asemalla. Kun jollekin säilytyksen kannalta merkittäväle lehmälle ei voida tehdä alkiohuuhtelua, siitä on mahdollista teurastuksen jälkeen kerätä munasoluja ja koeputkihedelmöittää ne.

Sperma on edullisin keino rodun lukumäärän



tai vaihtelun elvyttämisessä. Rotupuhtauden antavat alkiot ovat hyvä pohja rodun uudelleen perustamisessa. Alkioita on pakastettu ainoastaan kyytöiltä, tähän mennessä 18 lehmän ja 12 sonnin parituksesta tuotettuna yhteensä 106 alkiota. Eläingenvaraojelma asetti 2004 tavoitteeksi saada ISK:lle ja PSK:lle kummallekin 25 lehmästä jokaiselta 8 alkiota.

Vertailu muihin Euroopan maihin

EURECA-projektissa tarkasteltiin kryosäilytyksen ohjelmaa Alankomaissa, Italiassa, Ranskassa ja Suomessa. Tarkastelu ulotettiin yhteensä 52 rotuun, Suomesta mukana olivat ISK ja LSK. Tavoitteena oli inventoida saatavilla olevat kryovarastot ja tarkastella muun muassa terveysvaatimuksia, säädöstöä ja varastointiin kelpaamisen kriteerejä.

Kaikissa maissa huomattiin paikallisten rotujen romahtaminen samoihin aikoihin 1970 - 80 -luvulla. Tämä johti säilytysohjelmien aloittamiseen ja julkiseen rahoitukseen. Kryovarastoissa on paikallisille roduille yleisesti kaksi kategoriaa: uudistamiseen käytetyt sperma-annokset ja pitkäaikaisvarastot, joita voidaan käyttää vaihtelun elvyttämiseen ja uusien sonnien tuottamiseen.

Pitkäaikaisvarastojen käyttö on rajoitettua. Säilytyksen toteuttajina on monesti keinosiemennysorganisaatio, Suomea lukuun ottamatta toisena varastopaikkana on myös erillinen tutkimus- tai geenivarainstituutti. Kaikissa



EURECA-hanke (Towards (self)sustainability of European Regional Cattle breeds – Euroopan paikallisten nautarotujen menestystekijät) alkoi maaliskuussa 2007. Hankkeeseen osallistuu tutkimusryhmiä kymmenestä Euroopan maasta. Tarkoituksena on saada toinen toiselta toimintamalleja paikallisten nautarotujen menestykselle. Osallistuvista maista otettiin yhteensä 15 rotua tarkempaan arviointiin. Suomesta valitsimme länsisuomenkarjan LSK:n ja itäsuomenkarjan ISK:n (kyytön). Hankkeessa tehtiin myös katsaukset maiden kryosäilytyksen tilasta ja arvioitiin geneettisen vaihtelun ylläpidon nykyisiä menetelmiä.



Kyyttöpoika Koivulinnan Uno ISK S 14339 valmistautumassa hyppäämään.

maissa pitkäaikais säilytys on julkisin varoin tehtyä. Ranskassa ja Suomessa sperman keräys tehdään pelkästään keinosiemennysasemalla, Italiassa puolet ja Alankomaissa osaksi myös tiloilla. Tämän mukaisesti Ranskassa ja Suomessa sonnin annosmäärä on nykyisin yli 1000. Toisaalta Italiassa ja Alankomaissa politiikkana on mahdollisimman suuri sonnijoukko, pienet spermamäärät ja nopea sonnikierto. Säilytetyistä sonneista neljännes on peräisin ennen vuotta 1980 syntyneistä sonneista – Italiassa tämä osuus on vain muutama prosentti. Ranskassa säilytystyön volyyminä on vähennetty, koska kustakin rodusta on jo suuret annosmäärät säilössä. Varmuudeksi rodun kryosäiliöitä pidetään toistaiseksi kahdessa tai kolmessa eri paikassa, Suomessa ainoastaan yhdessä.

Kryosäilytyksen vahvuuksina on toiminnan hyvä koordinaatio ja julkinen rahoitus ja käytettävissä olevan varaston suuruus. Pakastaminen ei ole edelleenkään halpaa, erityisen kallista on alkioiden tuottaminen pakkasvarastoihin. Tämän takia on tärkeää kehittää yhteistyötä valtaroduilla työskentelevien organisaatioiden kanssa. Julkisen rahoituksen jatkuminen on myös elinehto. n

Johtopäätökset

- Suomenkarjan rodut ovat tärkeällä sijalla geenivaraohjelmassa: LSK:lla on jalostusohjelma, ISK:lla ja PSK:lla ylläpidetään geneettinen vaihtelu (Faban rekisterissä olevien lehmien paritussuunnittelu) ja tuotostaso.
- Ohjelmien runkona on pakastesperman käyttö ja pitkäaikais säilytys.
- Sperman kerääminen, varastointi ja tiedonhallinta perustuvat keinosiemennysorganisaation asiantuntijuuteen.
- Suomenkarjan spermavarastot edustavat hyvin käytettävissä olevaa geneettistä vaihtelua.
- Kaikkein vanhimpien ja arvokkaampien siemenerien käytöstä sovitaan geenivaraohjelman kanssa.
- Kryosäilytys, erityisesti alkioiden kerääminen ja pakastaminen, vaatii lisäresursseja.

