



Effekten af ceronebehandlet byg på reproduktionsforholdene hos rotter, mink og høns

*The influence of Cerone treated barley on
reproduction in rats, mink, and hens*

Bjørn O. Eggum
Birthe M. Damgaard
Vagn E. Petersen
Poul Sørensen
Jan E. Hedemand

STATENS HUSDYRBRUGSFORSØG
Forskningscenter Foulum, Postboks 39, 8830 Tjele
Tlf.: 89 99 19 00. Fax: 89 99 19 19

Statens Husdyrbrugsforsøg, oprettet 1883, er en institution under Landbrugsministeriet.

Institutionen har til formål at gennemføre forskning og forsøg og opbygge viden af betydning for erhvervsmæssigt husdyrbrug i Danmark og bidrage til en hurtig og sikker formidling af resultater til brugerne.

Der skal i forsknings- og forsøgsarbejdet lægges vægt på ressourceudnyttelse, miljø og dyrevelfærd samt husdyrprodukternes kvalitet og konkurrenceevne.

Institutionen er opdelt i fire forskningsafdelinger, et Centrallaboratorium, en Afdeling for Landbrugsdrift og et Sekretariat. Forskningsafdelingerne omfatter Afd. for Dyrefysiologi og Biokemi samt tre dyreartsorienterede afdelinger: Afd. for Forsøg med Kvæg og Får, Afd. for Forsøg med Svin og Heste, samt afd. for Mindre Husdyr.

Abonnement på Statens Husdyrbrugsforsøgs Forskningsrapporter, Beretninger og Informationsblad kan tegnes ved direkte henvendelse til Statens Husdyrbrugsforsøg på ovenstående adresse.

NATIONAL INSTITUTE OF ANIMAL SCIENCE
Research Centre Foulum, P.O. Box 39, DK-8830 Tjele
Tel: +45 89 99 19 00. Fax: +45 89 99 19 19

The National Institute of Animal Science was founded in 1883 and is a governmental research institute under the Ministry of Agriculture.

The aim of the institute is to carry out research and accumulate knowledge of importance to Danish animal husbandry and to contribute to an efficient implementation of the results to the producers.

In the research great importance is attached to the utilization of resources, environment and animal welfare and to the quality and competitiveness of the agricultural products.

The National Institute of Animal Science comprises four research departments, a Central Laboratory, a Department for Farm Management and Services, and a Secretariat. The research departments comprise: Dept. for Animal Physiology and Biochemistry, Dept. for Research in Cattle and Sheep, Dept. for Research in Pigs and Horses, and Dept. for Small Farm Animals.

For subscription to reports and other publications please apply directly to the above address.

Forskningsrapport nr. 17
fra Statens Husdyrbrugsforsøg

Report No. 17

from the National Institute of Animal Science, Denmark

Effekten af ceronebehandlet byg på reproduktionsforholdene hos rotter, mink og høns

The influence of Cerone treated barley on reproduction in rats, mink, and hens

With English summary and subtitles

***Bjørn O. Eggum
Birthe M. Damgaard
Vagn E. Petersen
Poul Sørensen
Jan E. Hedemand***

Forskningscenter Foulum 1993

Manuskriptet afleveret december 1993

Trykt i Frederiksberg Bogtrykkeri a/s 1994

Indholdsfortegnelse

Sammendrag	7
Summary	9
1 Indledning	11
2 Materiale - Dyrkning af ceronebehandlet byg	13
3 Forsøg med rotter	15
3.1 Indledning	15
3.2 Materiale og metoder	15
3.2.1 Foder	15
3.2.2 Forsøgsdyr	15
3.2.3 Parringsprocedure	16
3.2.4 Statistiske analyser	16
3.3 Resultater fra F ₀ -generationen	17
3.3.1 Kropsvægt	17
3.3.2 Foderoptagelse	19
3.3.3 Reproduktion	21
3.3.4 Obduktion og døde unger	22
3.3.5 Histopatologiske resultater	23
3.3.6 Kliniske observationer	23
3.3.7 Dødelighed	23
3.4 Resultater fra F ₁ -generationen	23
3.4.1 Kropsvægt	23
3.4.2 Foderoptagelse	25
3.4.3 Reproduktion	27
3.4.4 Obduktion og døde unger	29
3.4.5 Histopatologiske resultater	30
3.4.6 Kliniske observationer	30
3.4.7 Dødelighed	30
3.5 Diskussion og konklusion	30
4 Forsøg med mink	32
4.1 Indledning	32
4.2 Omfang	32
4.3 Materialer og metoder	32
4.3.1 Forsøgsdyr	32
4.3.2 Forsøgsfoder	33
4.3.3 Avlsprocedure	33
4.3.4 Målinger og observationer	33

4.3.4	Statistiske beregninger	34
4.4	Resultater fra F ₀ -generationen	35
4.4.1	Kliniske observationer og dødelighed	35
4.4.2	Kropsvægt	35
4.4.3	Foderoptagelse	37
4.4.4	Reproduktionsdata	38
4.4.5	Blodundersøgelser	40
4.4.6	Organundersøgelser	42
4.4.7	Histologiske undersøgelser	42
4.5	Resultater fra F ₁ -generationen	42
4.5.1	Kliniske observationer og dødelighed	42
4.5.2	Kropsvægt	43
4.5.3	Foderoptagelse	45
4.5.4	Reproduktionsdata	46
4.5.5	Blodundersøgelser	47
4.5.6	Organundersøgelser	49
4.5.7	Histologiske undersøgelser	50
4.6	Diskussion og konklusion	51
5	Forsøg med høns	52
5.1	Metode og materiale	52
5.1.1	Hane og hønemateriale	52
5.1.2	Forsøgsfoder	52
5.1.3	Inseminering af hønerne	54
5.1.4	Udrugning af kyllinger	55
5.1.5	Ægundersøgelser	55
5.1.6	Forsøgsplan	55
5.1.7	Statistiske analyser	56
5.2	Resultater og diskussion	57
5.2.1	Hønernes produktionsresultater	57
5.2.2	Ægundersøgelser	59
5.2.3	Hanernes sædkvalitet	60
5.2.4	Æggenes befrugtning og rugbarhed	62
5.2.5	Dødelighed i kyllingernes første 14 levedage	70
5.2.6	Testiklernes størrelse	71
5.2.7	Dødsårsager	71
5.3	Konklusion	72
	Anerkendelse	73
	Litteratur	74

Contents

Danish summary	7
English summary	9
1 Introduction	11
2 Material - Growing of cerone-treated barley	13
3 Experiments with rats	15
3.1 Introduction	15
3.2 Material and methods	15
3.2.1 Diets	15
3.2.2 Experimental animals	15
3.2.3 Breeding procedure	16
3.2.4 Statistical analyses	16
3.3 Results from the F ₀ generation	17
3.3.1 Body weight	17
3.3.2 Feed consumption	19
3.3.3 Reproduction	21
3.3.4 Autopsy of dead offspring	22
3.3.5 Histopatological results	23
3.3.6 Clinical observations	23
3.3.7 Mortalities	23
3.4 Results from the F ₁ generation	23
3.4.1 Body weight	23
3.4.2 Feed consumption	25
3.4.3 Reproduction	27
3.4.4 Autopsy of dead offspring	29
3.4.5 Histopatological results	30
3.4.6 Clinical observations	30
3.4.7 Mortalities	30
3.5 Discussion and conclusion	30
4 Experiments with mink	32
4.1 Introduction	32
4.2 Principle	32
4.3 Materials and methods	32
4.3.1 Experimental animals	32
4.3.2 Experimental diet	33
4.3.3 Breeding procedure	33

4.3.4	Measurements and observations	33
4.3.4	Statistical analyses	34
4.4	Results from the F_0 generation	35
4.4.1	Clinical observations and mortality	35
4.4.2	Body weight	35
4.4.3	Feed intake	37
4.4.4	Reproduction data	38
4.4.5	Blood examinations	40
4.4.6	Organ examinations	42
4.4.7	Histological examinations	42
4.5	Results from the F_1 generation	42
4.5.1	Clinical observations and mortality	42
4.5.2	Body weight	43
4.5.3	Feed intake	45
4.5.4	Reproduction data	46
4.5.5	Blood examinations	47
4.5.6	Organ examinations	49
4.5.7	Histological examinations	50
4.6	Discussion and conclusion	51
5	Experiments with poultry	52
5.1	Methods and material	52
5.1.1	Males and females	52
5.1.2	Experimental diet	52
5.1.3	Insemination of the hens	54
5.1.4	Hatching of the chickens	55
5.1.5	Egg quality	55
5.1.6	Experimental plan	55
5.1.7	Statistical analyses	56
5.2	Results and discussion	57
5.2.1	The performance of the hens	57
5.2.2	Egg quality	59
5.2.3	Semen quality	60
5.2.4	Fertilization and hatchability of the eggs	62
5.2.5	Mortality during the first 14 days	70
5.2.6	The size of the testicles	71
5.2.7	Causes of death	71
5.3	Conclusion	72
	Acknowledgements	73
	Literature	74

Sammendrag

Iagttagelser fra praksis samt biologiske forsøg med husdyr har antydnet, at fodring med kornafgrøder behandlet med Cerone kunne forringe husdyrenes produktionsresultater.

På denne baggrund blev det besluttet at gennemføre reproduktionsforsøg med mindre dyr, der fik tildelt byg sprøjtet med Cerone på tre niveauer:

- | | |
|---|-----------|
| 1. Parcel sprøjtet med 0 x Cerone | (kontrol) |
| 2. Parcel sprøjtet med 1 x normaldosis Cerone | (1 x Ce) |
| 3. Parcel sprøjtet med 4 x normaldosis Cerone | (4 x Ce) |

I nærværende rapport omtales resultater fra tre separate reproduktionsforsøg med henholdsvis rotter, mink og høns, der fik tildelt byg sprøjtet med Cerone på de tre anførte niveauer. Kemiske analyser på kerner fra de tre parceller viste, at kerner fra 0 x Cerone såvel som fra 1 x Ce indeholdt $< 0,3$ ppm ethephon (den aktive del af Cerone), medens kerner fra 4 x Ce indeholdt 0,52 ppm.

Reproduktionsforsøget med rotter er gennemført i overensstemmelse med International Guidelines (OECD Guideline No. 416) som to-generationsforsøg med 72 hanrotter og 72 hunrotter med 24 af hvert køn pr. behandling i hver generation. Grupper a 48 SPF rotter (24 hanner og 24 hunner) er blevet doseret med henholdsvis 50% ubehandlet byg i foderet (kontrol), 50% byg behandlet med 1 x Ce i foderet eller 50% byg behandlet med 4 x Ce i foderet. I forsøgene kunne der ikke konstateres nogen uheldig effekt af Cerone. Vægten af F_0 - og F_1 -generationerne var ikke påvirkede af doseringen af parcellerne med Cerone. Der kunne heller ikke registreres nogen sikker forskel på foderoptagelsen holdene imellem. Behandlingen havde ingen effekt på tiden indtil parring, drægtighedsperioden eller drægtighedsfrekvensen i de to generationer af rotter. Ved obduktion fandt man få ændringer, og ingen kunne blive relateret til behandlingen. Antal af unger, hanner såvel som hunner, kuldstørrelse, vægt samt tilvækst var det samme for begge køn uanset foderets behandling. Der kunne ikke spores nogen kliniske forandringer, hverken hos F_0 -generationen, F_1 -generationen eller hos afkommet.

Reproduktionsforsøget med mink er også gennemført i henhold til International Guidelines. Forsøget er udført som et to-generationsforsøg med 42 hanner og 84 tæver. Dyrene blev tilfældigt fordelt på de tre forsøgshold hver på 14 hanner og 28 tæver. Byg udgjorde 20-25% af foderblandingsens tørstof. I forsøget kunne der ikke påvises effekt på vægt og foderoptagelse for hanner, tæver og hvalpe i de to generationer. Der er ikke påvist effekt ved blodundersøgelser og patologiske undersøgelser. Ved de histologiske undersøgelser blev hos hanner i hjertemuskulaturen påvist myocardfibrose. I første generation var frekvensen af myocardfibrose større på holdet der fik byg sprøjtet med 4 gange normaldosis af Cerone end på de øvrige hold. De fundne frekvenser kan dog ikke relateres til forsøgsbehandlingen. Ved reproduktionsundersøgelser omfattende antal sterile og kryptorchide hanner, antal parrede og drægtige tæver, antal hvalpe ved fødsel, kønsfordeling og antal døde hvalpe i laktationsperioden blev der ikke påvist forskelle holdene imellem.

Forsøget med høns er udført i overensstemmelse med OECD's Guidelines som et to-generationsforsøg. Til forsøgets 2. generation blev anvendt afkom af 1. generations høns. I forsøgsfoderet indgik de 3 bygpartier med 50-65% fra henholdsvis kontrolparcellen, 1 x Ce og 4 x Ce.

Rugeforsøget blev i hvert af de 2 år udført med $12 \times 18 = 216$ høner. Det første år blev anvendt 15-20 haner pr. behandling, og sæden blev pooled inden for behandling før inseminering. Det andet år blev anvendt 12 haner pr. behandling, og sæden fra en given hane blev anvendt til 6 høner i samme gentagelse. Resultaterne viste, at der for æggydelse og foderforbrug ikke var nogen signifikante forskelle mellem de tre behandlinger. I 2. generation var der flere døde høner på holdet, der fik byg sprøjtet med fire gange normaldosis; disse observationer blev ikke fundet i 1. generation af høner, og i de to generationer af haner var der ingen tegn på effekt af ceronebehandlet byg på dødelighed.

Æggenes hvidehøjde og skalkkvalitet var upåvirket af byggens behandling. Det samme var tilfældet for hanernes sædkvalitet. Æggenes befrugtning og rugbarhed samt frekvens af døde fostre på 18. rugedag var ikke påvirket af behandlingen.

Ud fra reproduktionsundersøgelser med rotter, mink og høns kan det konkluderes, at færdigfoder, indeholdende henholdsvis 50%, 10% og 50-65% byg sprøjtet med normaldosering Cerone, ikke har haft nogen uheldig effekt på de målte parametre. Ved fire gange normaldosering Cerone kunne der spores en negativ effekt på livskraft hos høner. Hos rotter og mink derimod havde 4 gange normal sprøjtet dosering ingen effekt.

Summary

Observations under practical conditions as well as in direct experiments with pigs and bulls given cereals treated with Cerone indicate negative effects on animal performance. On this background it was decided to perform reproduction experiments with smaller animals given barley sprayed with Cerone at three levels:

1. Parcel sprayed with 0 x Cerone (control)
2. Parcel sprayed with 1 x normal dose Cerone (1 x Ce)
3. Parcel sprayed with 4 x normal dose Cerone (4 x Ce)

In the present report are discussed results from three separate reproduction studies with rats, mink and hens, respectively, given barley from the three parcels sprayed with Cerone at the three levels indicated. Chemical analyses of kernels from the three parcels showed that barley from the 0 x Cerone parcel and from the 1 x Cerone parcel contained <0.3 ppm ethephon (the active part of Cerone) while kernels from the 4 x Ce parcel contained 0.52 ppm.

The reproduction experiment with rats is performed in agreement with International Guidelines (OECD Guideline No. 416) as a two-generation experiment with 72 male rats and 72 female rats with 24 of each sex per treatment in each generation. Groups of 48 specific pathogen free rats (SPF) (24 males and 24 females) are dosed with 50% untreated barley, 50% barley treated with 1 x Ce or 50% barley treated with 4 x Ce, respectively, in the diets.

In the experiments could not be observed any deleterious effects of Cerone. The body weight of the F_0 as well as the F_1 generation was not influenced by the dose level of the parcels with Cerone. Feed intake was the same for all three groups. The treatment had no influence on time until breeding or pregnancy frequency in the two generations. Autopsy and histopathology could not disclose any changes related to the treatments. Number of offspring, males, as well as females, litter size, body weight and daily gain were the same for both sexes irrespective of dietary treatment. No clinical changes could be observed neither in the F_0 generation, in the F_1 generation nor in the offspring.

The reproduction experiment with mink is also performed according to International Guidelines as a two-generation experiment with 42 males and 84 females. The animals were distributed at random on the three experimental groups with 14 males and 28 females on each diet. Barley contributed with 20-25% of dietary dry matter. In the experiments could not be demonstrated any influence on body weight or feed intake for males, females or offspring in the two generations. No changes could be detected in blood parameters and in pathological examinations. In males, the histological examinations showed myocardial fibrosis of the cardiac muscle. In the first generation the frequency of myocardial fibrosis was higher in the group given barley sprayed with 4 times the normal dose of Cerone than in the other groups. However, the frequencies found cannot be related to the experimental treatment. In reproduction examinations including number of sterile and cryptorchid males, number of mated and pregnant females, number of kits at birth, sex distribution of offspring, number of dead kits in the lactation period no differences between groups were found.

The experiment with hens is also performed over two generations and in agreement with OECD Guidelines. For the second generation experiment offspring from the F_0 generation was used. In the experimental diet the differently treated barley materials made out 50 to 65%. The brooding experiment in each of the two years was performed with $12 \times 18 = 216$ hens.

In the first year 15-20 breeding cocks were used per treatment, and the semen was pooled within each treatment. In the second year 12 breeding cocks were used per treatment, and the semen from a specific cock was applied for 6 hens in the same replication. The results demonstrated that for egg yield and feed utilization there were no significant differences between the three treatments. During the

second year there were more dead hens ($P < 0.05$) in the group given barley sprayed four times the normal dose of Cerone than in the group given the control diet. The height of albumen and the shell quality were not influenced by the treatment of the barley. The same was the case for the semen quality of the cocks. The fertility of the eggs, the results from the hatching, and the frequency of dead embryos on the 18th day were not affected by the different treatments.

From the reproduction experiments with rats, mink and hens it is concluded that diets containing 50%, 10%, and 50-65% of barley sprayed with normal doses of Cerone have no deleterious influence on the parameters included in the study. When the Cerone dose was increased to four times the normal dose a negative influence on mortality could be observed in the hens in the second generation. In rats and mink, no changes were identified when the animals were given the 4 x Ce level barley treatment.

1 Indledning

Inden for landbruget anvendes en lang række kemikalier med forskellige formål, men alle med henblik på at øge det kvantitative udbytte af markdriften. Denne store anvendelse af kemikalier har bevirket, at der næres frygt for, at man herved kan ændre afgrødernes næringsværdi samtidig med, at husdyrenes reproduktionsforhold kan påvirkes.

Blandt disse kemikalier findes forskellige handelsprodukter, som går under fællesbetegnelsen "stråforkortere". Kornmarker sprøjtes med disse stråforkortere, når planterne når et givent udviklingstrin. Formålet med anvendelsen af stråforkortere er at sikre, at stråene på høsttidspunktet er kortere end normalt for dermed at mindske risikoen for lejesæd. Direkte forsøg med husdyr til belysning af, om en eventuel negativ effekt af stråforkortere findes, foreligger kun i begrænset omfang.

Med hensyn til næringsværdien af byg sprøjtet med handelsproduktet Cerone (med den kemisk aktive komponent ethephon (2-chloroethyl phosphonic acid)), så kunne man i forsøg med rotter ikke konstatere nogen ændring (Larsen et al. 1990). Byg sprøjtet med normal- henholdsvis 2 x normaldosis Cerone havde ingen ændringer i kemisk sammensætning sammenlignet med byg, som ikke var sprøjtet. Det samme var tilfældet for proteinkvaliteten og energiens fordøjelighed samt for foderudnyttelsen. I et tidligere forsøg med rotter (Larsen et al. 1988) blev Cerone tilsat direkte i foderet (uden sprøjtet korn) på tre niveauer (0, 0,5 og 1,0 ppm) for at undersøge om dette handelsprodukt havde nogen biologisk effekt. Til trods for at det højeste niveau (1,0 ppm) af Cerone i foderet var dobbelt så højt, som det man kan forvente at finde i danskavlet korn, kunne der ikke konstateres signifikante ændringer på de anvendte kriterier. Forsøget viste endvidere, at Cerone primært bliver udskilt med urinen. Ved de anvendte detektionsgrænser kunne der heller ikke konstateres ethephon i hjerte, testikler eller tværstribet muskulatur. En vejning af rotternes lever, nyrer, testikler, milt og hjerte viste, at størrelsen af disse organer var den samme, uanset om dyrene fik Cerone i foderet eller ikke. Det samme var også tilfældet for en række kliniske undersøgelser på prøver af blod.

Af forsøg på husdyr med sprøjtede fodermidler findes der en del danske undersøgelser. Danielsen og Eklundh Larsen (1989) fodrede smågrise og sopolte med hvede fra en mark, der var behandlet med stråforkorteren CCC (chlormequat-chlorid) fra de var 3 uger gamle og indtil løbning ved ca. 130 kg. Som strøelse blev brugt halm fra den samme CCC-behandlede mark. Det viste sig, at smågrisene havde nedsat vækst og foderoptagelse, medens sopoltene efter 10 ugers alderen ved normfodring havde nedsat tilvækst. Ved at fodre med CCC-behandlet hvede og samtidig bruge halmstrøelse fra ubehandlet mark sås ingen effekt af den CCC-behandlede hvede på grisenes tilvækst og foderoptagelse.

I et andet forsøg fodrede Danielsen et al. (1989) gylte og 1. lægssøer med hvede fra en mark, der var sprøjtet med CCC. Som strøelse blev anvendt halm fra samme mark. Forfatterne fandt, at CCC-behandlet hvede som eneste korn i grisenes foder øgede frekvensen af omløbninger, farefeber og manglende brunst efter fravænnning af det første kuld grise. Der var tendenser til, at halmstrøelsen fra den CCC-behandlede mark forstærkede disse forsøgsudslag. Kuldstørrelsen var ikke påvirket.

Danielsen og Eklundh Larsen (1990) har endvidere udført 2 forsøg med svin, der blev fodret med byg fra en mark behandlet med stråforkorteren Cerone. Det første forsøg blev påbegyndt med 3 uger gamle grise og afsluttet efter ca. 2½ år, hvor de som søer afvænnede deres 4. kuld smågrise. Forsøget viste, at fodring med byg fra den ceronebehandlede mark resulterede i en gris mindre pr. kuld.

Det andet forsøg blev gennemført over 6 måneder med 48 søer, som i denne periode gennemførte 2 diegivningsperioder og 1 drægtighedsperiode. Søerne blev fodret med byg fra en mark behandlet med Cerone og/eller Roundup (ukrudsmiddel), og deres strøelse bestod af halm fra samme mark. Ved søer, som fik tildelt foder og strøelse, der var behandlet med både Cerone og Roundup, blev pattegrisenes levedygtighed signifikant reduceret. Cerone havde i ingen af forsøgene indflydelse på grisenes sundhedstilstand.

I forsøg med ungtyre viste Bech Andersen et al. (1990), at anvendelsen af ceronebehandlet halm og

kerne ikke påvirkede deres sundhedstilstand, tilvækst, foderudnyttelse, kropssammensætning, reproduktionsorganer eller sædkvalitet. På den anden side fandtes en signifikant forøgelse af testikelrumfanget på ca. 7%. Forfatterne antog dog, at denne forskel ikke ville have betydning for dyrenes befrugtningsevne.

Effekten af ethephon hos rotter er undersøgt ved en række forsøg med udvoksede rotter samt med rotter i reproduktionsperioden og i drægtighedsperioden (Bushy Run Research Center 1989 & 1990; Hazleton Laboratories America 1989). Ved toksicitetsforsøg med udvoksede rotter blev der ved 3000 ppm ethephon ikke fundet effekt på kropsvægt og foderoptagelse (Bushy Run Research Center 1989). Ved togenerations reproduktionsforsøg med rotter blev ved 30000 ppm ethephon ikke fundet effekt på reproduktionsvariabler og den laveste koncentration, der ikke påvirkede foderoptagelse og kropsvægt, var 300 ppm (Bushy Run Research Center 1990). Ved undersøgelse af effekten på rotter i drægtighedsperioden alene var den laveste koncentration uden effekt 500 ppm ethephon (Hazleton Laboratories America 1989).

I nærværende rapport omtales resultater fra tre reproduktionsforsøg med henholdsvis rotter, mink og høns, der fik tildelt byg sprøjtet med Cerone på tre niveauer:

- | | |
|---|-----------|
| 1. Parcel sprøjtet med 0 x Cerone | (kontrol) |
| 2. Parcel sprøjtet med 1 x normaldosis Cerone | (1 x Ce) |
| 3. Parcel sprøjtet med 4 x normaldosis Cerone | (4 x Ce) |

Bjørn O. Eggum har været ansvarlig for og afrapporteret forsøgene med rotter, Birthe M. Damgaard forsøgene med mink og Vagn E. Petersen, Poul Sørensen og Jan E. Hedemand forsøgene med høns. Erik Kirknel, Statens Planteavlsvforsøg, har været ansvarlig for planlægning i forbindelse med dyrkningen af ceronebehandlet byg samt tilhørende analyser.

2 Materiale - Dyrkning af ceronebehandlet byg

Sprøjtemidlet Cerone er et stråforkortningsmiddel, der udsprøjtes på den grønne afgrøde i vækstperioden. Den kemisk aktive komponent i handelsproduktet Cerone er ethephon (2-chloroethyl phosphonic acid). Den ceronebehandlede byg, som er indgået i foderblandingerne til forsøg med rotter, mink og høns, blev dyrket i 1990 på forsøgsarealer tilhørende Forskningscenter Foulum.

Vårbygssorten Keazon blev udsået på en mark opdelt i tre parceller af samme areal. Den 12. juni 1990 blev de tre parceller sprøjtet efter følgende plan:

- | | |
|--|---------|
| 1. Parcel: 0,0 l Cerone/ha, ubehandlet, | kontrol |
| 2. Parcel: 0,5 l Cerone/ha, 1 x normaldosis, | 1 x Ce |
| 3. Parcel: 2,0 l Cerone/ha, 4 x normaldosis, | 4 x Ce |

Ved samme sprøjtning blev alle behandlingerne sprøjtet med 0,5 l Tilt/ha og 250 g Protex/ha. Pesticiderne blev udsprøjtet i 250 l/ha ved en kørehastighed på 7,6 km/t og ved 3 bar med dyse 4110-20. Byggen blev høstet 26. august 1990 og indeholdt 13% vand. Ved høst blev indledningsvis afhøstet ca. 15 m ind på hver parcel, og udbyttet fra det resterende areal på hver parcel blev anvendt til dyreforsøgene. Byggen blev opbevaret på foderfabrikken på Forskningscenter Foulum, indtil den blev anvendt til fremstilling af de respektive forsøgsfoderblandinger.

Fra hver parcel blev indsamlet 5 prøver af grøn byg som hele planter i perioden fra dag 1 til dag 49 efter sprøjtning til analyse for ethephon (tabel 2.1).

Der var signifikante udslag for ethephon i den ubehandlede afgrøde. Årsagen var sandsynligvis vinddrift fra de sprøjtede arealer.

Tabel 2.1 **Ethephon (ppm) i bygplanter sprøjtet 12/6 1990**
Ethephon (ppm) i barley plants treated 12/6 1990

Dage efter sprøjtning <i>Days after treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>	1 x Ce	4 x Ce
1	0,23	1,78	17,18
3	0,24	3,26	14,90
8	0,11	0,62	6,86
16	0,12	0,33	3,42
49	0,33	n.d.	3,59

n.d.: ikke detekterbar.

n.d.: not detectable.

Detektionsgrænse: 0,1 ppm.

Detection limit : 0.1 ppm.

I den høstede byg blev indholdet af ethephon analyseret i kernen (tabel 2.2). I den ubehandlede byg og i byg sprøjtet med normaldosis Cerone (1 x Ce) var indholdet af ethephon under 0,3 ppm, hvilket er under detektionsgrænsen ved den anvendte analysemetode for bygkerne. I byg sprøjtet med 4 gange

normaldosis Cerone (4 x Ce) blev ethephon påvist i koncentrationen 0,52 ppm.

Tabel 2.2 **Ethephon i bygkerne fra høst 1990**
Ethephon in grain of barley from harvest 1990

Behandling <i>Treatment</i>	ppm
Kontrol <i>Control</i>	< 0,3
1 x Ce	< 0,3
4 x Ce	0,52

Detektionsgrænse: 0,3 ppm.

Detection limit : 0.3 ppm.

Analyserne for ethephon er baseret på Union Carbides metode, hvor ethephon bestemmes ved gaskromatografi efter ekstraktion, fældning og methylering. Ekstraktionen og dermed detektionsgrænsen er afhængig af materialet, som skal analyseres. Detektionsgrænsen er således 0,1 ppm i grøn byg og 0,3 ppm i moden byg.

De høstede bygpartiers næringsværdi blev undersøgt ud fra kemiske analyser samt i balanceforsøg med rotter. Den kemiske sammensætning såvel som de biologiske forsøg viste, at næringsværdien af byg høstet på de tre parceller var helt ens.

Planlægningen af markforsøgene, udarbejdelsen af sprøjteplanen samt analyserne for ethephon er udført af Statens Planteavlsvforsøg, Afd. for Pesticidanalyser og Økotoksikologi ved Erik Kirknel. Næringsværdien i byggen er undersøgt af Statens Husdyrbrugsforsøg ved Bjørn O. Eggum.

3 Forsøg med rotter

3.1 Indledning

På baggrund af de refererede forsøgsresultater samt den usikkerhed, der råder ved at anvende korn fra marker behandlet med stråforkortningsmidler i husdyrproduktionen, blev det besluttet at gennemføre reproduktionsforsøg med rotter foruden tilsvarende forsøg med mink og høns. Byg sprøjtet med Cerone på 3 niveauer indgik i foderet.

Rotter er traditionelt den mest anvendte biologiske dyremodel i toksicitetsundersøgelser. Hervedende reproduktionsforsøg har man således kunnet gennemføre i overensstemmelse med International Guidelines (OECD Guideline No. 416). Forsøgene påbegyndtes 24. september 1990, og de eksperimentelle undersøgelser blev afsluttet 27. maj 1991.

3.2 Materiale og metoder

3.2.1 Foder

Der indgik tre behandlinger af byg:

- | | |
|--|-----------|
| 1. Byg som ikke blev sprøjtet med Cerone | (kontrol) |
| 2. Byg sprøjtet med normaldosering Cerone | (1 x Ce) |
| 3. Byg sprøjtet med fire gange normaldosering Cerone | (4 x Ce). |

De respektive bygpartier indgik i forsøgsfoderet med 50% af tørstoffet. I tilvænningsperioden fik forsøgsdyrene "Altromin 1314" fra Chr. Petersen A/S, DK-4100 Ringsted. I behandlingsperioden blev kornandelen (50% af tørstoffet i totalfoderet) erstattet med de respektive bygpartier. Alle diæter blev analyseret for kemisk sammensætning samt for eventuelle kontaminanter. Foderet blev tildelt efter ædelyst. Vand var tilgængeligt ad libitum og kontrolleret for eventuelle kontaminanter.

3.2.2 Forsøgsdyr

Reproduktionsforsøget er gennemført som to-generationsforsøg med 72 hanrotter og 72 hunrotter med 24 af hvert køn pr. behandling i hver generation.

I F₀-generationen er hanrotter blevet doseret i 10 uger før parring samt i parringsperioden. Hunrotter er blevet doseret i 2 uger før parring, i parringsperioden, under drægtigheden og diegivningen. Efter fravænningsperiode er ungerne fortsat med tre slags foder under opvæksten, i parringsperioden, under drægtigheden og diegivningen indtil fravænningsperiode af næste generation.

Gennem hele testperioden er hvert dyr observeret dagligt. Ændringer i adfærd, tegn på vanskelige fødsler, toksicitet og dødelighed blev beskrevet. Der er målt kropsvægte og foderindtagelse.

For hvert kuld unger er beskrevet antal, køn, evt. dødfødsler, døde unger og tidspunkter for dødsfald, synlige misdannelser og mulige adfærdsåndringer. Fertiliteten og antal parrede hunner, som fødte, er blevet sammenlignet for de tre grupper. Der er foretaget obduktioner af de to forældregenerationer, hvor kønsorganer og hypofyse er blevet undersøgt mikroskopisk for kontrolgruppedyr og dyr fra den højeste doseringsgruppe.

Rotterne var alle fra kolonien Mol: WIST fra Møllegaards Avlscenter ApS, Ejby, DK-4623 Lille Skensved.

Ved forsøgenes påbegyndelse var rotterne 5-6 uger gamle og vejede fra 121-146 g. Tilvænningsperioden varede 1 uge. I tilvænningsperioden såvel som i tiden indtil parring blev dyrene holdt i type III Macrolone bur (42 x 26 x 15 cm) med to i hvert bur, hvor hanner og hunner blev holdt adskilt. Under parringen blev én han og én hun holdt i samme bur, medens hunddyrene gik alene i hvert sit bur under

drægtigheden og laktationsperioden. Som strøelse blev benyttet savsmuld "Spanvall Special White" fra Spanvall A/S, Jordløse, DK-4490 Jerslev. Strøelsen blev regelmæssigt analyseret for eventuelle kontaminanter. Ved ankomsten til laboratoriet blev rotterne tilfældigt fordelt på de tre forsøgshold efter et randomiseret skema. Alle rotter blev øremærket, og hvert bur blev identificeret med et farvemærket kort, hvor der var angivet undersøgelsens nr., hold, køn samt dyrets ørenummer som angivet nedenunder.

F₀-generation:

	♀	♂	Farve (kort)
Hold 1, kontrol	1-24	101-124	Hvid
Hold 2, normaldosís Cerone (1 x Ce)	25-48	125-148	Blå
Hold 3, 4 x normaldosís Cerone (4 x Ce)	49-72	149-172	Grøn

F₁-generation:

	♀	♂	Farve (kort)
Hold 1, kontrol	201-224	301-324	Hvid
Hold 2, 1 x Ce	225-248	325-348	Blå
Hold 3, 4 x Ce	249-272	349-372	Grøn

Kliniske symptomer blev noteret dagligt igennem hele studiet. Kropsvægten blev målt hver uge, medens foderkonsumptionen blev registreret under perioden indtil parring, under drægtigheden samt i laktationsperioden.

Resultater vedrørende kuld samt antal unger, køn, dødfødte samt levende fødte blev registreret så hurtigt som muligt efter fødsel. Endvidere blev registreret kuldstørrelse på dag 1, antal hanner og hunner dag 1, antal overlevende unger på dagene 1, 4, 7, 14 og 21, antal unger med synlige abnormiteter samt unger med fysiske eller stærke bevægelsesabnormaliteter. Drægtighedsperioder og reproduktionsparametre blev beregnet.

Alle voksne dyr i F₀- og F₁-generationen blev obduceret ved en makroskopisk undersøgelse af organerne. Implantationsstederne i livmoderen blev talt. Testikler, bítestikler, prostata, sædblærer, slimkirtler, æggestokke, livmoder, livmoderhals, skede og hypofyse blev undersøgt under mikroskop hos alle dyr hos kontrolholdet samt dyr på den højeste dosering af Cerone. Fra alle dyr blev makroskopiske ændringer af organerne også undersøgt under mikroskop.

3.2.3 Parringsprocedure

Hver hun blev parret med en han fra samme hold (behandling), indtil hunnen var drægtig, eller der var hengået 3 uger. Hundyr, som ikke blev parret med den første han, blev parret med en anden fertil han. På dag 21 efter fødsel fravænnedes afkommet, og 24 hanner og 24 hunner fra dette afkom fra så mange kuld som muligt blev selekteret. Selektionen foregik tilfældigt. De 24 hanner og 24 hunner fra hvert hold (behandling) blev benyttet til at producere næste generation (F₁-generationen). Dyrene indgik først i reproduktion, når de var mindst 13 uger. Parringen fandt sted mellem dyr fra samme behandling, men de to køn stammede fra hvert sit kuld. Parringsproceduren var den samme som for den tidligere generation.

Dyrene fik lov til at føde på normal vis, men på 4. dagen efter fødsel blev kuldernes størrelse justeret ved at eliminere ekstra unger, således at hvert kuld kom til at bestå af 4 hanner og 4 hunner. Såfremt dette ikke var muligt, blev det accepteret at have f.eks. 5 hanner og 3 hunner pr. kuld. Såfremt der var mindre end 8 unger pr. kuld, var det ikke muligt at justere for køn.

3.2.4 Statistiske analyser

Resultaterne blev behandlet for holdgennemsnit med standardafvigelser. Tilvækst og gennemsnit i

perioden blev beregnet. Eventuelle afvigere blev identificeret, men ikke udeladt af analysen. Derefter blev hver kontinuierlig variabel testet for homogenitet af variansen med Barlett's test. Såfremt variansen var homogen, blev eventuelle forskelle mellem holdene bestemt med Dunnett's test.

Hvis variansen var heterogen, blev hver variabel testet for normalitet ved Shapiro-Wilk metoden. I tilfælde med normal fordeling blev mulige forskelle mellem holdene identificeret med Student's t-test. Ellers blev mulige forskelle mellem holdene bestemt ved Kruskal-Wallis's test. Såfremt signifikante forskelle mellem holdene kunne observeres, blev den følgende identifikation af holdene foretaget efter Wilcoxon Rank-Sum test. Katagoriske data blev analyseret med Chi-square test eller Fisher's Exact test. Kønsfordelingen blev først testet for homogenitet inden for hold, førend resultaterne blev slået sammen til test mellem holdene efter en Chi-square test.

De værdier, som indgår i de statistiske analyser af afkommet, er gennemsnitsværdier for hvert kuld og for hvert køn. Efter analyse af afkommets kropsvægte for hvert køn blev en mulig signifikant interaktion mellem køn og behandling testet. De statistiske analyser blev gennemført med SAS-Procedurer som beskrevet i SAS Users Guide (1987) og StatXact Procedure (1989). Ved de statistiske analyser er signifikante forskelle mellem gennemsnitsværdierne for kontrolholdet og forsøgsholdene angivet ved *P<0.05 eller **P<0.01. Såfremt der ikke er nogle stjerner, er forskellene ikke signifikante.

3.3 Resultater fra F₀-generationen

3.3.1 Kropsvægt

I tabel 3.1 er vist kropsvægte for hanner før og under parringsperioden. Alle dyr er vejet ugentligt, men i tabel 3.1 er kun anført værdier for dag 0, 49 og 91. På intet tidspunkt i den anførte periode var der signifikante forskelle mellem rotterne på kontrolholdet og de to forsøgshold.

Tabel 3.1 **Kropsvægt (g) for hanner før og under parringsperioden**
Body weight (g) for males during premating and mating period

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n	24		24		24	
Dag <i>Day</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
0	180	8	177	10	175	8
49	364	31	358	29	360	27
91	423	41	419	37	417	29

Hunrotterne blev vejet på dag 0, 7 og 14 inden parring, og der var ingen signifikante forskelle på disse vægte uanset fodertype. Resultaterne er vist i tabel 3.2. Der var ligeledes ingen forskelle på kropsvægtene (tabel 3.3) under drægtighedsperioden ved vejning på dagene 0, 7, 14 og 20. Ved sidste vejedag havde rotterne en gennemsnitsvægt på 313 g for kontrolholdet, medens rotterne på 1 x Ce vejede 318 g og rotter på 4 x Ce 321 g. I tabel 3.4 er vist kropsvægten af rotterne under laktationen på dag 1, 7, 14 og 21. På ingen af disse vejedage var der signifikante forskelle holdene imellem. Det samme var tilfældet for tilvæksten under hele laktationsperioden.

Tabel 3.2 **Kropsvægt (g) for hunner i tiden inden parring**
Body weight (g) of females in the pre mating period

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	24		24		24	
Dag Day	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
0	156	8	159	7	157	8
7	175	11	179	8	177	11
14	190	13	193	8	193	13

Tabel 3.3 **Kropsvægt (g) i drægtighedsperioden**
Body weight (g) during pregnancy

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	21		23		23	
Dag Day	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
0	192	15	197	7	198	13
7	218	16	222	9	223	16
14	253	21	256	11	260	18
20	313	27	318	22	321	24

Tabel 3.4 **Kropsvægt og tilvækst (g) i laktationsperioden**
Body weight and weight gain (g) during lactation

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	21		23		23	
Dag Day	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
0	242	21	244	14	247	20
7	262	21	261	16	265	22
14	274	21	277	16	278	23
21	264	22	268	17	271	20
Tilvækst dag 1-21 Weight gain day 1-21	23	14	23	10	23	10

3.3.2 Foderoptagelse

I tabel 3.5 er vist foderoptagelsen for hanner for første uge efter fravænning til og med 10. uge. Heraf fremgår, at handyrene fortærede den samme mængde foder ($P > 0.05$) på alle tre typer diæter uanset fodertype. Den totale foderkonsumption i perioden uge 1-10 var således den samme for alle hold.

Foderoptagelsen hos hunner for 2 uger inden parring er vist i tabel 3.6. Der var ingen signifikant forskel på dyrenes ædelyst i denne periode uanset fodertype. I drægtighedsperioden blev foderoptagelsen målt ugentligt (tabel 3.7), men der var på intet tidspunkt forskel ($P > 0.05$) holdene imellem.

Foderoptagelsen i laktationsperioden målt for dagene 1-4, 4-7, 7-14, 14-21 samt for alle 3 uger under ét. Der var ingen forskelle holdene imellem på de 4 registreringstidspunkter, men for hele perioden 1-21 dage havde dyrene på hold 4 x Ce en statistisk ($P < 0.01$) højere foderkonsumption end kontrolholdet (tabel 3.8).

Tabel 3.5 Foderoptagelse (g) hos hanner inden parring
Feed consumption (g) of males in the premating period

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	24		24		24	
Uge Week	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
1	158,0	10,1	159,0	8,5	158,2	8,6
2	161,1	9,8	163,7	8,1	160,9	10,7
3	169,3	11,5	164,8	9,0	163,0	10,8
4	185,1	12,1	176,6	9,6	172,9	11,0
5	181,9	18,1	171,9	8,6	177,0	10,0
6	179,9	11,3	181,8	13,3	174,5	9,4
7	186,4	30,0	177,7	13,6	171,8	9,4
8	179,9	15,4	174,3	7,0	176,6	13,4
9	171,5	12,7	167,1	8,3	169,3	10,6
10	185,0	21,9	173,6	16,8	179,7	25,1
Total	1777,8	161,2	1707,2	83,3	1703,9	103,2
Gns. uge 1-10 Mean of week 1-10	175,1	12,4	171,1	8,1	170,4	10,3

Tabel 3.6 **Foderoptagelse (g) hos hunner inden parring**
Feed consumption (g) of females in the pre mating period

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	24		24		24	
Uge Week	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
1	126,7	4,9	121,7	6,1	128,7	8,0
2	131,8	7,0	129,0	7,3	133,3	8,4
1+2	258,5	10,6	250,6	11,7	262,0	15,9
Gns. for 2 uger Mean of 2 weeks	129,3	5,3	125,3	5,8	131,0	7,9

Tabel 3.7 **Foderoptagelse (g) i drægtighedsperioden**
Feed consumption (g) during pregnancy

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	21		23		22	
Dag Day	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
0-7	153,9	16,3	153,8	22,6	162,5	41,0
7-14	168,7	18,1	167,1	10,6	173,0	16,3
14-20	156,6	17,4	155,4	12,6	157,9	12,5
0-20	479,1	46,9	476,3	37,6	493,3	58,6

Tabel 3.8 **Foderoptagelse (g) i laktationsperioden**
Feed consumption (g) during lactation

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	21		23		23	
Dag Day	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
1-4	131,4	49,3	195,9	151,1	188,4	106,3
4-7	136,6	15,2	166,1	89,7	165,7	99,5
7-14	384,9	121,0	387,4	34,3	410,3	81,1
14-21	469,1	66,5	478,7	31,7	504,9	35,3
1-21	1122,0	130,8	1228,0	238,3	1269,5**	245,6

3.3.3 Reproduktion

Antal unger pr. moderdyr var det samme uanset fodertype, og der var heller ingen signifikante forskelle på kønsfordelingen (tabel 3.9). Vægte af afkommets hanner på dagene 1, 4, 7, 14 og 21 er vist i tabel 3.10. Heraf fremgår, at der på ingen af vejedagene var signifikante ($P > 0.05$) forskelle mellem dyrene på kontrolholdet og henholdsvis hold 1 x Ce og 4 x Ce. De samme iagttagelser kunne man gøre for afkommets hunner (tabel 3.11).

Tabel 3.9 **Antal unger af begge køn**
Number of offspring of both sexes

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
Antal moderdyr <i>Number of dams</i>	21		23		22	
	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
Hanner <i>Males</i>	5,8	1,8	5,3	1,7	5,8	1,8
Hunner <i>Females</i>	6,1	2,1	5,9	2,5	6,3	1,8
Hanner + hunner <i>Males + females</i>	11,9	2,2	11,2	2,1	12,0	1,7

Tabel 3.10 **Vægt og tilvækst (g) af afkom, hanner**
Body weight and weight gain (g) of male offspring

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
Antal moderdyr <i>Number of dams</i>	21		23		23	
Dag <i>Day</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
1	6,6	0,5	7,0	0,8	6,9	0,7
4	9,7	0,9	10,2	1,1	10,2	1,3
7	15,6	1,3	15,8	1,3	16,3	1,5
14	31,1	2,4	30,6	2,1	31,9	2,5
21	49,1	4,1	48,9	3,9	51,5	4,1
Tilvækst dag 1-21 <i>Weight gain day 1-21</i>	42,5	3,8	41,9	3,5	44,6	3,8

Tabel 3.11 **Vægt og tilvækst (g) af afkom, hunner**
Body weight and weight gain (g) of female offspring

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
Antal moderdyr <i>Number of dams</i>	21		23		23	
Dag <i>Day</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
1	6,3	0,5	6,6	0,8	6,6	0,6
4	9,4	0,9	9,7	1,3	9,9	1,1
7	15,0	1,2	15,1	1,6	15,8	1,3
14	30,2	2,3	29,6	2,1	31,0	2,3
21	47,3	4,3	47,2	3,6	49,6	3,7
Tilvækst dag 1-21 <i>Weight gain day 1-21</i>	40,9	4,0	40,6	3,0	43,0	3,3

Fertilitetsforholdene er vist i tabel 3.12, og heraf fremgår, at drægtighedsperioden var præcis den samme for alle hold. Dette var også tilfældet for antal implanterede æg samt tab af æg.

Tabel 3.12 **Fertilitetsforhold**
Fertility

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n	21		23		23	
	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
Drægtighedsper., dage <i>Pregnancy period, days</i>	21,8	0,4	22,0	0,5	22,0	0,5
Implanterede æg, antal <i>Implanted eggs, No.</i>	12,5	2,1	11,9	2,0	12,8	1,7
Tab af æg, % <i>Post losses of eggs, %</i>	5,3	6,4	5,3	7,8	4,3	5,1
Fertilitetsprocent <i>Fertility, percent</i>	88		96		96	

3.3.4 Obduktion og døde unger

Der kunne ikke observeres nogen makroskopiske ændringer, som kunne henføres til behandlingen. Der var sporadiske tilfælde af sæknyre, små og slappe testikler, en slimkirtel manglede, og der kunne observeres nekroser i fedtvæv. En hanrotte på kontrolholdet havde et mælket øje, medens en hanrotte på hold 2 havde mellemgulvsbrok. Det var ikke muligt at bestemme dødsårsagen til 7 døde unger, enten var der ingen synlige forandringer, eller forandringerne var blot marginale. Hos de unger, som blev aflivet 4.

dagen, kunne der heller ikke spores makroskopiske ændringer.

3.3.5 Histopatologiske resultater

Testikler: Tre rotter på kontrolholdet og en rotte på 4 x Ce havde ingen eller meget få spermier i sædkanalerne og små vakuoler i det tubulære epithelvæv. En rotte på kontrolholdet havde ensidig kraftig degeneration med adskillige kæmpeceller i sædgangene.

Bitestikler: Rotter med ændringer i testiklerne havde ingen spermier i gangene i bitestiklerne, men dråbeformigt indhold. En stor del af gangene havde højt epithel. En rotte på 4 x Ce, som ikke havde nogen ændringer i testikelvævet, havde afstødte celler og reduceret antal af spermier i gangene.

Prostata: Syv rotter på kontrolholdet og fem på 4 x Ce havde mange små celleansamlinger i bindevævet. En rotte fra 4 x Ce havde afstødte celler og dråber af alveoleindhold i få alveoler, og en anden rotte fra 4 x Ce havde pletvis betændelse i prostata.

Sædblærer: Ingen ændringer kunne observeres.

Eggestokke: Ingen ændringer kunne observeres.

Livmoder: Tretten rotter på kontrolholdet og femten på 4 x Ce havde amorft materiale i muskelvævet i livmodervæggen. Ti henholdsvis seks af disse rotter havde også et brunligt pigment i muskelvævet. To rotter på kontrolholdet havde blot brunt pigment i væggen af livmoderen. To rotter på kontrolholdet havde slimhinden og dertil hørende kirtler fyldt med adskillige vakuoler med døde celler. Fem rotter på kontrolholdet og ti på 4 x Ce havde en vis udvidelse af begge horn på livmoderen.

Livmoderhals: En rotte på kontrolholdet havde en stor cyste bestående af slimhindevæv og epithelceller.

Skede: En rotte på kontrolholdet og en på 4 x Ce havde diffus infiltration af neutrofile celler i de overfladiske lag af epitheliet. En rotte på 4 x Ce havde indvækst af papiller i de dybereliggende væv.

Hypofysen: Otte rotter på kontrolholdet og 4 på 4 x Ce (hanner og hunner) havde en cyste med eosinofilt indhold i den mellemste eller distale del af hypofysen.

Andre observationer: Fem rotter havde sæknyre (to på kontrolholdet, en på 1 x Ce og to på 4 x Ce). En hanrotte på kontrolholdet havde et ar efter øjenbetændelse.

3.3.6 Kliniske observationer

Ingen kliniske symptomer, der kunne skyldes behandlingen, blev observeret. Otte rotter på kontrolholdet, otte på 1 x Ce og tre på 4 x Ce havde hårtab, hvilket også var tilfældet for nogle af ungerne. Der var endvidere sporadiske fund af blå pletter (blødninger) på ungerne lige efter fødsel.

3.3.7 Dødelighed

På kontrolholdet fandt man tre døde unger lige efter fødsel, og to unger var åbenbart spist af moderdyret.

På hold 1 x Ce blev der fundet elleve døde unger kort efter fødsel, medens to andre var savnet, antagelig spist af moderen. På 4 x Ce blev der fundet tre døde unger lige efter fødsel.

3.4 Resultater fra F₁-generationen

3.4.1 Kropsvægte

Kropsvægten hos hanner i tiden inden parring blev registreret ugentligt fra første dag efter fravæning og 10 uger frem. Resultaterne for dag 0, 35 og 70 er vist i tabel 3.13. Der var ingen signifikante ($P > 0.05$) forskelle holdene imellem for de enkelte uger. Det samme var tilfældet (tabel 3.14) for hundyrene, idet kropsvægtene var ens uanset fodertype. I tabel 3.15 er vist kropsvægte for hunner i drægtighedsperioden. Dyrene blev vejlet på dag 0, 7, 14 og 20. Rotterne havde samme tilvækst uanset det tildelte foder. Kropsvægte under laktationen blev registreret med én uges mellemrum (tabel 3.16), og der var ingen signifikante ($P > 0.05$) forskelle holdene imellem fra uge til uge.

Tabel 3.13 Kropsvægt (g) for hanner før parringsperioden
Body weight (g) of males before mating period

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n	24		24		24	
Dag <i>Day</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
0 ¹	69	7	69	9	73	9
35	287	17	282	25	297	26
70	401	27	386	34	412	36

1) **Den første dag efter fravænning.**
The first day after weaning.

Tabel 3.14 Kropsvægt (g) for hunner i tiden inden parring
Body weight (g) of females in the premating period

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n	24		24		24	
Dag <i>Day</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
0 ¹	64	7	65	8	67	7
35	188	14	187	12	192	14
70	236	18	235	16	239	16

1) **Den første dag efter fravænning.**
The first day after weaning.

Tabel 3.15 **Kropsvægt (g) i drægtighedsperioden**
Body weight (g) during pregnancy

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n	22		21		21	
Dag <i>Day</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
0	232	18	231	14	237	16
7	252	17	255	16	258	18
14	276	20	277	19	283	23
20	331	27	337	28	346	28

Tabel 3.16 **Kropsvægt og tilvækst (g) i laktationsperioden**
Body weight and weight gain (g) during lactation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n	22		21		21	
Dag <i>Day</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
0	259	20	256	17	264	20
7	277	23	270	19	279	22
14	287	22	283	15	296	22
21	281	21	274	16	288	17
Tilvækst dag 1-21 <i>Weight gain day 1-21</i>	21	13	19	11	24	13

3.4.2 Foderoptagelse

Foderoptagelsen hos hanner indtil parring er vist i tabel 3.17. De fortærede mængder er anført for hver uge fra uge 4 (efter fravænning) til og med uge 13. I disse uger var der ingen forskelle mellem kontrolholdet og 4 x Ce holdet uanset ugenr. På den anden side var foderoptagelsen hos dyrene på hold 1 x Ce signifikant ($P < 0.05$; 0.01) lavere end for de dyr, der fik kontrolholdets foder i ugerne 10, 11, 12 og 13. Hos hunrotterne derimod var der ingen forskelle på foderoptagelsen for de enkelte uger (4-13) uanset fodertype (tabel 3.18). Det samme var tilfældet for drægtighedsperioden (tabel 3.19) og laktationen (tabel 3.20).

Tabel 3.17 Foderoptagelse (g) hos hanrotter indtil parring
Feed consumption (g) of males in the premating period

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	24		24		24	
Uge Week	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
4	91,3	10,1	89,1	9,6	96,1	9,8
5	140,6	8,5	135,5	12,2	138,8	9,9
6	160,1	6,1	155,0	8,6	165,1	9,5
7	175,1	11,4	164,7	7,9	175,7	14,7
8	191,3	22,0	182,7	30,7	196,1	21,6
9	183,5	11,2	174,7	8,7	188,0	13,8
10	187,7	11,8	171,8**	8,5	183,7	14,7
11	190,0	12,2	177,1**	5,5	190,8	12,3
12	193,4	8,6	177,7**	8,2	192,0	13,3
13	181,0	9,3	168,1*	8,0	182,0	10,6
Total 4-13	1693,8	71,8	1596,4	74,2	1705,5	104,1
Gns. uge 4-13 Mean of week 4-13	169,4	7,2	159,6*	7,4	170,8	10,0

Tabel 3.18 Foderoptagelse (g) hos hunner inden parring
Feed consumption (g) of females in the premating period

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	24		24		24	
Uge Week	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
4	81,4	6,9	84,7	6,6	87,5	10,0
5	117,3	8,5	114,3	5,3	120,4	10,0
6	125,4	7,3	120,0	7,8	128,4	9,3
7	126,2	16,1	118,4	5,6	127,2	8,0
8	149,7	31,5	136,0	27,5	141,8	13,7
9	130,8	12,6	130,6	16,5	131,8	7,9
10	138,4	28,3	130,8	14,5	140,0	29,8
11	130,2	12,5	133,1	7,3	136,1	20,9
12	133,9	10,3	134,9	10,6	139,3	21,8
13	135,6	20,9	130,5	11,3	136,0	19,2
Total 4-13	1268,9	112,9	1233,3	85,6	1288,4	114,4
Gns. uge 4-13 Mean of week 4-13	126,9	11,3	123,3	8,6	128,8	11,4

Tabel 3.19 Foderoptagelse (g) i drægtighedsperioden
Feed consumption (g) during pregnancy

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	22		21		21	
Dag Day	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
0-7	156,1	19,3	165,9	34,5	177,8	87,1
7-14	163,5	17,1	162,5	16,4	170,7	29,7
14-20	146,3	13,7	145,3	18,5	167,6	73,8
0-20	462,3	39,3	473,7	58,8	516,1	131,8

Tabel 3.20 Foderoptagelse (g) i laktationsperioden
Feed consumption (g) during lactation

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	23		21		21	
Dag Day	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
1-4	150,4	121,6	179,9	171,6	134,4	74,6
4-7	155,7	83,3	161,2	90,2	139,3	41,2
7-14	385,8	62,9	374,1	51,7	396,5	63,5
14-21	485,4	83,5	467,7	62,5	519,8	61,4
1-21	1177,3	276,1	1182,9	297,2	1187,1	131,3

3.4.3 Reproduktion

Antal unger ved fødsel var ikke påvirket af fodertype (tabel 3.21), og fordelingen af hanner og hunner var den samme ($P > 0.05$).

I tabel 3.22 er vist vægten af afkommets hanner på dag 1, 4, 7, 14 og 21. På dag 1, 4 og 7 var der ingen signifikante ($P > 0.05$) forskelle på holdene, medens der på dag 14 og 21 samt tilvækst fra dag 1 til 21 var signifikante ($P < 0.01$) forskelle på kontrolholdet og 4 x Ce med de største værdier for 4 x Ce.

Vægte af afkommets hunner (tabel 3.23) blev registreret som for hannerne. Der var ingen signifikante ($P > 0.05$) forskelle på vægtene af dyrene på kontrolholdet og 1 x Ce, medens rotterne på diæt 4 x Ce var signifikant ($P < 0.05$) tungere end for dyrene på kontrolholdet på dag 7, 14 og 21 samt tilvæksten fra dag 1 til 21.

Tabel 3.21 **Antal unger af begge køn**
Number of offspring of both sexes

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
Antal moderdyr <i>Number of dams</i>	23		21		21	
	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
Hanner <i>Males</i>	6,1	2,4	6,6	3,0	6,9	2,1
Hunner <i>Females</i>	5,5	2,2	5,1	2,0	6,2	1,9
Hanner + hunner <i>Males + females</i>	11,7	2,9	11,7	3,2	13,1	1,3

Tabel 3.22 **Vægt og tilvækst (g) af afkom, hanner**
Body weight and weight gain (g) of male offspring

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
Antal moderdyr <i>Number of dams</i>	23		21		21	
Dag <i>Day</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
1	6,4	0,5	6,6	0,6	6,6	0,4
4	9,4	0,9	9,8	1,0	9,7	0,6
7	14,6	1,3	15,3	1,5	15,5	1,2
14	29,1	2,2	29,9	2,3	31,0*	2,8
21	46,8	3,7	48,1	3,8	50,4**	3,9
Tilvækst dag 1-21 <i>Weight gain day 1-21</i>	40,4	3,6	41,5	3,5	43,9**	3,8

Tabel 3.23 **Vægt og tilvækst (g) af afkom, hunner**
Body weight and weight gain (g) of female offspring

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
Antal moderdyr <i>Number of dams</i>	22		21		21	
Dag <i>Day</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
1	6,0	0,5	6,3	0,6	6,3	0,4
4	9,0	0,8	9,4	1,1	9,4	0,6
7	14,0	1,3	14,8	1,5	15,0*	0,8
14	28,4	2,4	29,3	2,2	30,1*	2,2
21	45,9	4,0	47,0	3,3	48,7*	3,1
Tilvækst dag 1-21 <i>Weight gain day 1-21</i>	39,9	3,8	40,7	3,9	42,4**	3,0

Fertilitetsforhold målt som drægtighedsperiode (dage), implanterede æg og tab af æg var ikke forskellig holdene imellem (tabel 3.24).

Tabel 3.24 **Fertilitetsforhold**
Fertility

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n	23		21		21	
	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
Drægtighedsper., dage <i>Pregnancy period, days</i>	21,8	0,5	22,0	0,5	22,0	0
Implanterede æg, antal <i>Implanted eggs, No.</i>	12,7	3,0	13,5	2,5	14,2	1,6
Tab af æg, % <i>Post losses of eggs, %</i>	6,1	8,0	8,1	10,9	5,9	6,1
Fertilitetsprocent <i>Fertility, percent</i>	96		88		88	

3.4.4 Obduktion og døde unger

Der var ingen makroskopiske ændringer, som kunne tilskrives behandlingseffekten. To rotter fra kontrolholdet, fem fra 1 x Ce og fire fra 4 x Ce havde punktformige blødninger i brislen. Der var sporadiske tegn på blødninger i lungerne, på sæknyre og tyk og hård livmoderhals. En rotte på kontrolholdet havde to knuder på livmoderen, medens en anden kun havde en slimkirtel. En rotte fra 1 x Ce havde kraftige blodkar i livmoderhornene, medens en rotte fra 4 x Ce havde en cyste i et af ovarier-

ne.

Tre unger fra 1 x Ce døde sandsynligvis af traumatiske læsioner, to af dem havde størknet blod i bughulen, medens en anden havde sprængt mavesæk. Det var ikke muligt at fastslå dødsårsagen hos de andre unger. Der var kun små eller ingen forandringer. Hos de unger, som blev aflivet på dag 4, var der ingen makroskopiske ændringer.

3.4.5 Histopatologiske resultater

Testikler: Tre rotter på 4 x Ce havde reducerede mængder af spermier i sædgangene og små vakuoler i epitelet i nogle gange. Hos en af dem var der et stort område i en af testiklerne med alvorlig degeneration og kæmpeceller i gangene. En rotte på 4 x Ce havde en lille pletvis afstødning af celler i gangene.

Bitestikler: De tre rotter på 4 x Ce med forandringer i testiklerne havde næsten ingen spermier i gangene på biestiklerne, men dråbeformigt indhold med få celler. Nogle af gangene havde lavt epitel.

Prostata: Fire rotter på kontrolholdet og fire på 4 x Ce havde små pletvise ansamlinger af celler i bindevævet. Tre rotter på kontrolholdet havde små pletter med udvidede alveoler med fladt epitel og lille indhold af dråbeformigt indhold. En rotte på kontrolholdet og en på 4 x Ce havde et lille område med alveolemateriale og nogle neutrofile granulocytter i gangene, og en rotte på kontrolholdet havde en alveole fyldt med cellehenfald. En rotte på kontrolholdet og en på 4 x Ce havde en svag pletvis betændelse i prostata.

Sædblærer: Ingen ændringer kunne registreres.

Slimkirtler: Ingen ændringer kunne registreres.

Æggestokke: Ingen ændringer kunne registreres.

Livmoder: Tolv rotter på kontrolholdet og otte på 4 x Ce havde amorft materiale i væggen muskeltvæv. Hos henholdsvis ni og seks af disse rotter indeholdt muskeltvævet noget brunligt pigment. To rotter på kontrolholdet og fem på 4 x Ce havde stigende mængder af cyster med cellehenfald i epitelet. En rotte på kontrolholdet samt en rotte fra 4 x Ce havde en svag pletvis blødning i de dybereliggende lag, og en rotte på kontrolholdet havde papiller i slimhinden, og to havde knuder i livmoderen. Syv rotter på kontrolholdet og fjorten på 4 x Ce havde forskellige grader af udvidelse, ensidig og dobbeltsidig, af livmoderen. En udvidelse af livmoderen kunne også ses hos rotter på 1 x Ce, som var undersøgt mikroskopisk på grund af, at der makroskopisk var fundet kraftige blodkar.

Livmoderhals: En rotte på 4 x Ce havde røde blodlegemer i livmoderhalsen, og en anden havde små pletvise blødninger i de dybe vævslag.

Skede: Ingen forandringer hos rotterne.

Hypofyse: To rotter på 4 x Ce havde en cyste med eosinofilt indhold. En rotte fra det samme hold havde store eosinofile celler.

Andre observationer: To rotter havde sæknyre (en fra kontrolholdet og en fra 1 x Ce). Otte rotter havde blødninger i bindevævet i brislen (en fra kontrolholdet, fire fra 1 x Ce og tre fra 4 x Ce).

3.4.6 Kliniske observationer

Ingen kliniske symptomer, der kunne skyldes behandlingen blev observeret.

3.4.7 Dødelighed

På alle hold blev der fundet 2 døde unger kort efter fødsel.

3.5 Diskussion og konklusion

Undersøgelsen har vist, at byg sprøjtet med Cerone ikke påvirkede reproduktionsforholdene hos rotter, selv om byg udgjorde 50% af foderet.

Der kunne ikke spores kliniske symptomer, hverken hos F₀-generationen, hos F₁-generationen eller

hos afkommet. Kun nogle enkelte unger, 0,4-1,4% af ungerne i de tre hold, var døde ved fødsel eller i løbet af 2-3 dage efter fødsel. På den laveste dosering af ceronebehandlet byg døde 4,5% af F_2 -ungerne. Her skal dog tilføjes, at seks ud af elleve døde unger på dette hold (2,4%) stammede fra det samme kuld.

Vægten af F_0 - og F_1 -generationerne var ikke påvirket af doseringen med ceronebehandlet byg. Kun tilvæksten for begge køn af F_2 -unger var forskellig i laktationsperioden. Tilvæksten hos ungerne på 4 x Ce var signifikant højere end for ungerne på kontrolholdet. På den anden side var hverken vægten eller foderoptagelsen hos mødrene signifikant påvirket. Tilvæksten hos F_2 -unger var for 4 x Ce 8,6% større hos hannerne og 6,2% større hos hunnerne end for de modsvarende dyr på kontrolholdet. For 1 x Ce var de tilsvarende tal 2,8 og 1,8% højere end for kontrolholdet. Til sammenligning var tilvæksten under laktationen for F_1 -unger 5% større for hannerne på 4 x Ce end for hanner på kontrolholdet. Den tilsvarende forskel for hunnerne var 4,1%. For 1 x Ce var tallene 1,4 og 1,8% lavere end for kontrolholdets vægte af henholdsvis hanner og hunner. Det skal understreges, at de målte forskelle på F_1 -ungernes tilvækst ikke var signifikant forskellige holdene imellem. Der var ingen effekt af behandlingen 1 x Ce.

Der kunne ikke registreres nogen sikker forskel på foderoptagelsen holdene imellem. Med hensyn til handyrene i F_0 -generationen havde dyrene på 4 x Ce en lavere foderoptagelse end rotterne på kontrolholdet i én uge ud af ti. I F_1 -generationen var der hos hanrotter på 1 x Ce en lavere foderoptagelse i perioden før parring. Med hensyn til hundyrene var foderoptagelsen på 4 x Ce for F_0 -generationen i laktationsperioden højere, medens dette ikke var tilfældet for F_1 -generationen. Der var således ingen dosiseffekt af sprøjtning med Cerone.

Behandlingen havde ingen effekt på tiden indtil parring, drægtighedsperioden, antal implanterede æg eller tab af implanterede æg, antal af unger af begge køn og fertilitetsforholdene i de to generationer af rotter. Tiden indtil parring var for alle hold længere for F_1 -generationen end for F_0 -generationen. Hannerne i F_0 -generationen var 13 uger, medens hannerne i F_1 -generationen var 15-16 uger gamle ved parring. Der var ingen forskel på ungerne kønsfordeling.

Ved obduktionen fandt man meget få ændringer - og ingen kunne relateres til behandlingen hverken i F_0 - eller i F_1 -generationen.

De observerede forandringer i testikelvævet skyldtes antagelig en primær defekt i det sædproducerende væv i testikler, som ikke var helt udviklet eller degenereret. Alle disse rotter var med en undtagelse ufrugtbare, men de blev brugt i parringen. En rotte med ensidig degeneration var befrugtningdygtig. Forandringerne i bitestiklerne var alle sekundære til den reducerede sædproduktion. Små ansamlinger af inflammatoriske celler i bindevævet i prostata er et velkendt spontant opstående fænomen hos sunde Wistar rotter.

Det amorf materiale af brunt pigment i væggen muskelvæv og vakuolerne med cellehenfald i epitelet er normale for tilbagedannelse af livmoderen efter drægtighed. Udvidelsen af livmoderen reflekterer blot et normalt cyklisk fænomen. Da flere rotter på 4 x Ce end på kontrolholdet havde udvidet livmoder, blev dette forhold testet statistisk med Fischer's Exact Test på hele materialet. Heraf fremgik, at der ikke var statistisk sikker forskel. Den mikroskopiske fremkomst af knuder i livmoderen hos en rotte på kontrolholdet var af meget mild karakter.

Cysten fundet i en livmoderhals var sandsynligvis medfødt. Infiltrationen med neutrofile celler i de overfladiske lag af skedeepitelet afspejler sandsynligvis cykliske forandringer, og indvæksten af papiller i de dybe lag i skeden var sandsynligvis en tilfældighed. Celledormorfologien var normal.

En cyste i hypofysen er et velkendt spontant opstående fænomen hos Wistar rotter. Sæknyre er et arveligt fænomen hos Wistar rotter. Den spontane opståen kan variere fra nogle få procent i en vis periode og op til 15% i andre perioder.

På grundlag af de målte parametre konkluderes, at en behandling af to generationer af rotter med byg sprøjtet med normaldosering af Cerone eller med 4 gange normaldosering af Cerone ikke havde nogen effekt på hverken hanners eller hunners reproduktive forhold. Byg indgik med 50% i rotternes foder.

4 Forsøg med mink

4.1 Indledning

I foder til mink udgør kornprodukter 5-10% af det færdige foder. Halm anvendes som strøelse i redekasserne, og den mængde halm, som mink eventuelt optager, er uden betydning. Alligevel har der været fremsat frygt for, at rester af sprøjtemidler i korn og halm kunne have uheldig effekt på reproduktionen hos mink.

Formålet med herværende forsøg har været at belyse, om byg sprøjtet med Cerone har nogen effekt på reproduktionen hos mink med hensyn til parring, drægtighed, fødsel, laktation, hvalperesultat og forandringer af reproduktionsorganer samt på foderoptagelse og vægtudvikling hos hvalpe og forældre-generationer.

4.2 Omfang

Undersøgelsen er gennemført i henhold til retningslinjer angivet i "OECD Guideline for Testing of Chemicals, Two-Generation reproduction Toxicity Study, no. 416" (OECD 1983). Forsøget er gennemført som et to-generationsforsøg og har omfattet to forsøgsgrupper og en kontrolgruppe.

Forsøget blev startet i november 1990 med første forældregeneration (F_0). Dyrene blev således udsat for toksisk påvirkning i den periode, hvor follikler og spermier blev udviklet forud for parringsperioden i marts. Hannerne i F_0 -forældregenerationen blev aflivet efter parringsperioden, mens tæverne blev aflivet ved fravæning af hvalpene (F_1). Blandt hvalpene blev i hver forsøgsgruppe tilfældigt udvalgt hanner og tæver til næste forældregeneration (F_1). Hannerne i F_1 -forældregenerationen blev aflivet efter parringsperioden og tæverne ved fravæning af hvalpene (F_2), samtidig med at forsøget blev afsluttet. Fodringen af F_0 -forældregenerationen med ceronebehandlet byg blev påbegyndt ved forsøgets start og fortsat til denne generation blev aflivet. Hvalpe fra første generation (F_1) blev fodret med ceronebehandlet byg gennem hele opvækstperioden og reproduktionsperioden frem til forsøgets afslutning ved fravæning af sidste generations hvalpe (F_2).

4.3 Materialer og metoder

4.3.1 Forsøgsdyr

I forsøgsfarmens gruppe af pastelmink blev i efteråret 1990 tilfældigt udvalgt 42 hanner og 84 tæver, alle født i 1990. Grundbesætningen bestod af sunde, plasmacytosefri dyr. De udvalgte dyr blev tilfældigt opdelt i 3 forsøgshold hver på 14 hanner og 28 tæver, hvori dyrene var at betragte som genetisk uafhængige. Forsøget er udført som et blokforsøg med i alt 7 blokke (gentagelser). I hver blok blev 2 hanner og 4 tæver fodret med hvert forsøgsfoder, og disse dyr var placeret tilfældigt inden for blokkene. Burene for de tre forsøgshold var identificeret med kort med forskellig farve. Dyrene var placeret i parringsgrupper på 1 han og 2 tæver, således at der ikke indgik hel- og halvsvæskende i samme parringsgruppe. Såfremt en tæve ikke blev parret med hannen i den pågældende parringsgruppe, blev parring forsøgt med en han fra en anden parringsgruppe med samme forsøgsfoder.

Dyrene var opstaldet i traditionelle produktionsbure i en lukket hal. Dyrene gik enkeltvis både i avlsperioden og i opvækstperioden.

Hvert dyr havde et nummer og er registreret i EDB-avlsprogrammet DanMink, hvori oplysninger om dyrets avlsværdi og slægtskab er registreret.

Forsøget blev påbegyndt 1. november 1990 og afsluttet 24. juni 1992.

4.3.2 Forsøgsfoder

Ved forsøget er undersøgt byg, sprøjtet med forskellige mængder af stråforkortningsmidlet Cerone. Byg som ikke var sprøjtet (kontrol), byg sprøjtet med normaldosering af Cerone (1 x Ce) og byg sprøjtet med 4 gange normaldosering af Cerone (4 x Ce) (jf. afs 2).

Færdigfoderet blev dagligt fremstillet ud fra grundfoder og ovennævnte partier af ceronebehandlet byg. Byggen blev varmebehandlet ved 105-110°C, formalet og opbevaret på frost. Det er almindeligt at varmebehandle kornprodukter til mink for at øge fordøjeligheden af kulhydratfraktionen. Grundfoderet var traditionelt minkfoder uden tilsætning af byg med lavt energiindhold om vinteren (ca. 120 kcal/100 g) og højt energiindhold om sommeren (ca. 180 kcal/100 g). Tørstofindholdet var på 30-40%. Grundfoderet blev fremstillet i mængder til 2-3 måneders forbrug og opbevaret på frost indtil anvendelse. Færdigfoderet indeholdt 10% behandlet byg, og byg udgjorde 20-25% af tørstofindholdet i de færdige foderblandinger.

Dyrene blev fodret efter normerne på forsøgsfarmen, og de havde fri adgang til drikkevand.

4.3.3 Avlsprocedure

Minkene blev parret i perioden fra 6. marts til 25. marts. Det blev tilstræbt at parre tæverne to gange med samme han. Tæver, der blev parret første gang inden 16. marts, blev omparret 9 dage efter, tæver, der blev parret første gang efter 16. marts, blev omparret dagen efter. Mink har forhalet implantation, og implantationen sker omkring 1. april, hvorefter fødselen indtræder omkring 1. maj.

4.3.4 Målinger og observationer

Daglige observationer: Dyrenes almene tilstand (ædelyst, adfærd, fæces, urin) blev dagligt registreret. Unormale forhold blev registreret.

Kropsvægte: I laktationsperioden blev tæverne vejede dag 3, 10, 17, 24, 31, 38 og 45 efter fødsel. Resten af året en gang om måneden. Hannerne blev vejede en gang om måneden. Hvalpene blev vejede dag 3, 17, 31 og 45 i laktationsperioden, og vægten blev beregnet som kuldgennemsnit for hvert køn. I opvækstperioden blev hvalpene vejede en gang om måneden.

Foderoptagelse: Foderoptagelsen pr. dag blev registreret en gang om måneden for hanner, tæver og hvalpe i vækstperioden. Foderoptagelsen blev ikke registreret for tæver i laktationsperioden, hvor tæverne blev fodret 2-3 gange om dagen. Optaget foder er beregnet som tildelt foder minus foderrest den følgende dag. Der er ikke taget hensyn til fordampning og spild. Ved kontrolmåling var foder-svindet ved fordampning 1,3%-1,8% i januar og februar og 5%-9% i november, marts og april.

Kuldoplysninger: Antallet af levende og døde hvalpe dag 1 efter fødsel blev registreret. Herefter blev hvalpene talt dag 3, 17, 31 og 45. Øvrige dage blev døde hvalpe registreret. Hvalpene blev kønsbestemt 3 dage gamle, og døde hvalpe blev kønsregistreret. Enkelte tæver fødte mere end 8 hvalpe. Hvalpe ud over 8 blev fjernet, idet der blev tilstræbt en ligelig kønsfordeling i kullet.

Reproduktionsvariabler: Der er foretaget registrering af antal parrede tæver, antal drægtige tæver, antal kryptorchide hanner, antal hanner, der har parret, og antal sterile hanner.

Patologiske undersøgelser: Dyr døde under forsøgsperioden blev obduceret. Dyr i forældregenerationen blev på aflivningstidspunktet obduceret. På tæver blev det forsøgt at tælle antallet af implantationssteder i livmoderen. Registreringerne var imidlertid meget usikre, og data er ikke medtaget i beregningerne.

Histologiske undersøgelser: Døde og aflivede dyr blev vejede. Organerne hjerte, lever og nyrer fra aflivede dyr blev vejede, og der blev udtaget materiale til histologiske undersøgelser. Endvidere blev til

histologisk undersøgelse udtaget lungevæv samt ovarier, uterus, cervix, vagina, testis, epididymis. De histologiske undersøgelser er gennemført på Statens Veterinære Serumlaboratorium i Århus.

Blodundersøgelser: Ved afslutning af forsøgene blev på alle hanner udtaget blodprøver ved hjertepunktur på anæsteserede dyr. De hæmatologiske undersøgelser har været hæmoglobin, middelcellevolumen, middelcellehæmoglobin, erythrocytter, leukocyter, trombocyter og differentialtælling af leucocyter. De klinisk-kemiske undersøgelser har omfattet aktiviteten af enzymerne aspartat-aminotransferase (ASAT), alanin-aminotransferase (ALAT) og creatin-kinase (CK) samt indholdet af urea, creatinin og total protein i plasma.

4.3.5 Statistiske beregninger

De statistiske analyser er gennemført ved hjælp af procedurer beskrevet i SAS (SAS Institute Inc. 1987). Gennemsnit og standardafvigelse er beregnet ved hjælp af standardmetoder. For de målte variabler er gennemsnit testet for varianshomogenitet ved Bartlett's test og for normalfordeling ved plot med normalfordelingsplot i SAS. For en række af de fysiologiske variabler var det nødvendigt med en logaritmisk transformation af indsamlede data for at opnå varianshomogenitet og normalfordeling. Ved manglende varianshomogenitet og/eller normalfordeling blev forskelle mellem holdene testet ved Kruskal-Wallis's test. Dette var tilfældet for enkelte fysiologiske variabler og for foderoptagelsen på enkelte observationstidspunkter.

Ved varianshomogenitet og normalfordeling er forskelle mellem behandlinger testet ved variansanalyser, hvor følgende generelle modeller er anvendt:

$$\begin{aligned}
 (1) \quad Y_{ij} &= \mu + \alpha_i + \beta_j + \epsilon_{ij} \\
 (2) \quad Y_{ijk} &= \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{l(i)} + \delta_{k(i)} + \epsilon_{ijk}
 \end{aligned}$$

hvor

Y	=	målt værdi
μ	=	gennemsnit
α_i	=	effekt af behandling i (i=kontrol, 1 x Ce, 4 x Ce)
β_j	=	effekt af blok j (j=1,2,...,7)
$\gamma_{l(i)}$	=	effekt af far l nested inden for behandling i (l=1,2,...,14)
$\delta_{k(i)}$	=	effekt af mor k nested inden for far l og behandling i (k=1,2,...,28)
ϵ	=	random effekter [$\sim N(0, \sigma^2)$].

Hovedmodel (1) er generelt anvendt ved egenskaber i første generation (F_0), idet individerne i denne generation er at betragte som genetisk uafhængige, mens hovedmodel (2) generelt er anvendt ved egenskaber i anden generation (F_1), idet individerne i denne generation er genetisk beslægtet inden for behandlingsgrupperne. For kropsvægte for tæver i diegivningsperioden er de generelle modeller udvidet med effekt for antal hvalpe pr. tæve og interaktion mellem antal hvalpe og behandling. Hvalpevægte i diegivningsperioden er vurderet som kuld gennemsnit for hvert køn ved hver vejedato, og er betragtet som en egenskab knyttet til moderen. Slægtskabet mellem kuldene via kuldfaderen er i begge generationer inkluderet i modellerne. I begge generationer er antallet af hvalpe i kullet medtaget i variansanalysen, men af hensyn til antallet af observationer og dermed antallet af frihedsgrader i modellen er interaktion mellem antal hvalpe og behandling ikke medtaget i modellen. Sidstnævnte interaktionsled havde ingen indflydelse på tævernes vægt i diegivningsperioden.

Ved variansanalyserne er effekter, der skyldes slægtskab mellem individerne, betragtet som tilfældige effekter. Ved signifikant forskel mellem behandlinger er forskelle mellem kontrolholdet og de øvrige to behandlinger testet ved Dunnett's test på basis af LS-Mean værdier.

For katagoriske data (antal gølte tæver, kønsfordeling af hvalpe) er forskelle mellem behandlinger undersøgt ved logistisk regressionsanalyse ved maximum-likelihood-analyse, hvori er inkluderet effekten af behandling og blok (gentagelse).

Ved signifikante forskelle ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$) mellem holdene er disse markeret i tabellerne. Såfremt der ikke er signifikante forskelle, er intet angivet i tabellerne.

4.4 Resultater fra F₀-generationen

4.4.1 Kliniske observationer og dødelighed

Sundhedstilstanden var generelt meget god hos dyr ved alle tre behandlinger gennem hele forsøgsperioden.

Fra dyrene blev indsat i forsøg og indtil reproduktionsperioden, blev der ikke registreret unormale tilstande eller sygdomme hverken blandt hanner eller tæver. På hold 4 x Ce havde en tæve fødselsvanskeligheder og fødte 3 dødfødte hvalpe. Tæven døde 19/5-91 som følge af børbetændelse og peritonitis. En tæve på kontrolholdet havde nedsat ædelyst fra 19/4-91. Tæven fik ingen hvalpe og blev aflivet 26/5-91. Ved obduktionen havde tæven forstørrede knuder i lunger og nyrer som følge af en kronisk infektion. En tæve på hold 1 x Ce havde nedsat ædelyst fra 18/4-91. Den fødte 29/4-91, men åd straks alle hvalpene.

4.4.2 Kropsvægt

Kropsvægten for hanner i F₀-generationen er vist i tabel 4.1. Der er ikke fundet forskelle i kropsvægt ($P > 0.05$) mellem hanner på de tre hold. I tabel 4.2 er angivet vægten for tæver fra udvælgelsen og frem til vejningerne i april inden fødselstidspunktet. Der er ikke påvist forskelle i kropsvægt ($P > 0.05$) mellem tæver på de tre hold.

Tabel 4.1 Kropsvægt (g) for hanner i F₀-generationen
Body weight (g) for males in the F₀ generation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n	14		14		14	
Dato <i>Date</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
5/11-90	2123	229	2197	212	2095	319
5/12-90	2066	246	2165	212	1987	338
10/1-91	2028	263	2159	201	1984	299
12/2-91	2047	181	2137	185	2018	250
12/3-91	2011	225	2117	226	1992	280
3/4-91	1822	264	1964	224	1848	245

Tabel 4.2 **Kropsvægt (g) for tæver i F_0 -generationen**
Body weight (g) for females in the F_0 generation

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	28		28		28	
Dato Date	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
5/11-90	1143	158	1138	138	1168	117
5/12-90	1112	157	1108	149	1117	135
10/1-91	1088	144	1082	161	1084	147
12/2-91	1006	109	1036	128	1011	114
12/3-91	975	105	996	132	1007	116
16/4-91	1076	118	1078	135	1127	108

Vægtudviklingen for tæver i laktationsperioden er angivet i tabel 4.3. Ved de angivne vejetidspunkter er der ikke påvist vægtforskelle ($P > 0.05$) mellem holdene. Vægten for han- og tævehvalpe er angivet i tabel 4.4. Der er ikke påvist forskelle i kropsvægt ($P > 0.05$) for hvalpene i laktationsperioden.

Tabel 4.3 **Kropsvægt (g) for tæver i laktationsperioden i F_0 -generationen**
Body weight (g) for females during lactation in the F_0 generation

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	24		21		23	
Dag Day	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
3	1048	122	1039	115	1064	98
10	1018	146	1017	110	1043	93
17	987	148	985	114	1007	98
24	968	140	957	122	986	91
31	936	126	931	103	971	93
38	891	109	877	84	929	81
45	833	96	813	86	874	96

Tabel 4.4 **Kropsvægt (g) for han- og tævehvalpe i laktationsperioden i F₀-generationen**
Body weight (g) for male and female kits during lactation in the F₀ generation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
Hanner <i>Males</i>						
Antal kuld <i>No. of litters</i>	23		20		23	
Dag <i>Day</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
3	17	3,3	17	3,1	18	4,4
17	76	16	78	14	82	15
31	156	36	154	37	164	29
45	296	79	282	80	319	66
Tæver <i>Females</i>						
Antal kuld <i>No. of litters</i>	23		20		23	
Dag <i>Day</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
3	15	3,2	15	2,8	18	4,8
17	66	13	70	15	74	14
31	139	32	146	25	147	26
45	268	52	276	56	288	56

4.4.3 Foderoptagelse

Foderoptagelsen for avlsdyr er målt en gang om måneden i vækstperioden og i reproduktionsperioden frem til fødselstidspunktet (tabel 4.5-4.6). Der er ikke fundet forskelle i foderoptagelse (P>0.05) hverken for hanner eller tæver.

Tabel 4.5 Foderoptagelse (g/dag) for hanner i F_0 -generationen
Feed consumption (g/day) for males in the F_0 generation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n	14		14		14	
Dato <i>Date</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
26/11-90	154	11	150	17	148	21
15/1 -91	278	4,2	263	29	271	18
20/2 -91	234	18	221	41	235	18
19/3 -91	197	38	192	44	205	37

Tabel 4.6 Foderoptagelse (g/dag) for tæver i F_0 -generationen
Feed consumption (g/day) for females in the F_0 generation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n	28		28		28	
Dato <i>Date</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
26/11-90	116	22	112	25	113	24
15/1 -91	153	17	158	6,6	153	16
20/2 -91	149	21	154	17	158	7,6
19/3 -91	156	25	157	25	157	28
17/4 -91	166	34	175	28	177	7,8

4.4.4 Reproduktionsdata

I tabel 4.7 er antallet af avlshanner angivet. Ved avlshanner forstås hanner, der er benyttet til parring. Kryptorchisme, enkelt- og dobbeltsidig, kan sikkert diagnosticeres i februar. Hanner, der var kryptorchide, blev ikke benyttet til parring og indgår ikke i gruppen af avlshanner. Der var ikke forskel i frekvensen af kryptorchide hanner ($P > 0.05$) mellem holdene. Ud af antallet af avlshanner er antallet, der gennemførte parring, og antallet af sterile hanner beregnet. Der er ikke fundet forskelle i frekvensen af disse grupper ($P > 0.05$) mellem holdene.

Antallet af avlstæver samt antallet heraf, der blev parret, og som var golde, fremgår af tabel 4.8. Der er ikke fundet forskelle i frekvensen af de nævnte grupper ($P > 0.05$) mellem holdene.

Tabel 4.7 **Antal kryptorchide hanner, antal avlshanner, heraf antal med parring og antal sterile i F₀-generationen**
Number of cryptorchid males, number of breeding males including mated and sterile males in the F₀ generation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>	1 x Ce	4 x Ce
Kryptorchide hanner¹⁾ <i>Cryptorchid males</i>	1	0	1
Avlshanner <i>Breeding males</i>	13	14	13
m. parring <i>mated</i>	8	10	11
sterile <i>sterile</i>	0	2	3

1) Ud af 14 hanner pr. behandling.
In 14 males per treatment.

Tabel 4.8 **Antal avlstæver, antal parrede tæver og antal golde tæver i F₀-generationen**
Number of breeding females, number of mated females and number of barren females in the F₀ generation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>	1 x Ce	4 x Ce
Avlstæver <i>Breeding females</i>	28	28	28
Parrede tæver <i>Mated females</i>	28	28	27
Golde tæver <i>Barren females</i>	4	3	3

Kuldstørrelsen er beregnet som antallet af fødte hvalpe pr. frugtbar tæve (tabel 4.9). Kuldstørrelsen var 5,6 hvalpe/kuld på kontrolholdet, 6,0 hvalpe/kuld ved 1 x Ce og 5,0 hvalpe/kuld ved 4 x Ce. Der var ikke statistisk signifikante forskelle ($P > 0.05$) mellem holdene, der kan henregnes til fodringen. Kuldtabet er beregnet som antallet af hvalpe pr. frugtbar tæve, der døde i diegivningsperioden. Hovedparten af hvalpene døde inden for de første 9 levedøgn. Kuldtabet var 0,42-1,3 hvalpe/kuld. Der var ingen signifikante forskelle ($P > 0.05$) mellem holdene.

Tabel 4.9 **Antal hvalpe pr. kuld ved fødsel (kuldstørrelse) og antal døde hvalpe pr. kuld i diegivningsperioden (kuldtab) i F_0 -generationen**
Number of kits per litter at birth (litter size) and number of dead kits per litter in the nursing period (loss per litter) in the F_0 generation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
Antal kuld <i>No. of litters</i>	24		25		24	
	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
Kuldstørrelse <i>Litter size</i>	5,6	1,7	6,0	2,1	5,0	1,7
Kuldtab <i>Loss per litter</i>	0,92	1,3	1,3	2,2	0,42	0,83

Antallet af han- og tævehvalpe var stort ens på holdene, og der er ikke fundet forskelle i kønsfordelingen mellem holdene. Da der således ikke er interaktion mellem fodringen med ceronebehandlet byg og kønsfordelingen er vægten for han- og tævehvalpe undersøgt hver for sig.

4.4.5 Blodundersøgelser

Resultaterne af de hæmatologiske og klinisk-kemiske undersøgelser ved pelsning af hanner er vist i tabel 4.10. Der er for ingen af de undersøgte variabler fundet forskelle mellem holdene ($P > 0.05$).

Tabel 4.10 Hæmatologiske og klinisk-kemiske undersøgelser af hanner i F₀-generationen, 3/4-91
Haematological and clinical-chemical examinations of males in the F₀ generation, 3/4-91

Behandling <i>Treatment</i>		Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n		14		14		14	
Variabel <i>Variable</i>		Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
Erythrocytter <i>Erythrocytes</i>	10 ¹² /l	7,7	0,59	7,7	0,71	7,7	1,0
Hæmatokrit <i>Haematocrit</i>	%	45	3,7	45	4,1	44	8,3
Hæmoglobin <i>Haemoglobin</i>	mmol/l	10,1	0,86	10,0	0,99	9,8	1,7
Middelcellevolumen <i>Mean corpuscular volume</i>	fl	61	2,3	61	2,3	60	5,1
Middelcellehæmoglobin <i>Mean corpuscular haem.</i>	fmol	1,32	0,05	1,31	0,06	1,28	0,14
Leukocytter <i>Leucocytes</i>	10 ⁹ /l	5,1	1,5	5,2	1,4	5,8	2,6
Segment. gran. <i>Segment. leu.</i>	%	44	13	41	11	53	11
Stavkern. gran. <i>Rod shaped leu.</i>	%	0,86	0,77	0,71	0,73	0,71	0,73
Eosinofile gran. <i>Eosinophil leu.</i>	%	10	6,4	11	6,7	7,5	4,9
Basofile gran. <i>Basophil leu.</i>	%	0,14	0,36	0,36	0,50	0,07	0,27
Lymfocytter <i>Lymphocytes</i>	%	42	13	43	8,8	36	13
Monocyter <i>Monocytes</i>	%	3,4	1,2	4,0	1,4	3,4	1,3
Thrombocyter <i>Thrombocytes</i>	10 ⁹ /l	433	78	407	50	440	65
ASAT <i>ASAT</i>	μkat/l	1,5	0,47	1,4	0,33	1,4	0,43
ALAT <i>ALAT</i>	μkat/l	1,8	0,55	1,8	0,77	1,8	0,67
CK <i>CK</i>	μkat/l	11	15	8,3	8,9	6,0	3,7
Total protein <i>Total protein</i>	g/l	65	4,8	6,2	2,6	6,5	3,6
Urea <i>Urea</i>	mmol/l	6,8	2,1	6,4	1,4	5,5	0,7
Creatinin <i>Creatinine</i>	μmol/l	53	8,0	55	6,6	55	6,1

4.4.6 Organundersøgelser

I tilslutning til udtagning af histologisk materiale blev organerne vurderet makroskopisk, og hjerte, nyrer og lever blev vejet. Alle organer blev vurderet som makroskopisk normale. Organvægtene er angivet som relative vægte i forhold til kropsvægten og fremgår af tabel 4.11. For hanner er der ikke påvist forskelle mellem holdene ($P > 0.05$). Tæverne blev ikke obduceret i F_0 -generationen, da der ikke var forskelle dels i kuldstørrelse og dels i vægtudvikling.

Tabel 4.11 Kropsvægt (g) samt relative organvægte (%) af hanner i F_0 -generationen ved forsøgets afslutning 3/4-91

Body weight (g) and relative organ weights (%) of males in the F_0 generation at the end of the experiment 3/4-91

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	14		14		14	
	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
Kropsvægt (KV) <i>Body weight (BW)</i>	1822	264	1964	224	1848	245
Hjerte i % af KV <i>Heart in % of BW</i>	0,59	0,09	0,59	0,08	0,59	0,07
Nyre i % af KV <i>Kidney in % of BW</i>	0,56	0,06	0,58	0,07	0,58	0,09
Lever i % af KV <i>Liver in % of BW</i>	3,8	0,74	3,6	0,48	3,8	0,59

4.4.7 Histologiske undersøgelser

Ved undersøgelse af døde dyr blev påvist vævslæsioner, der underbyggede de makroskopiske kliniske diagnoser.

Ved mikroskopisk undersøgelse af lunger, nyrer, lever og kønsorganer blev ikke påvist unormale forhold. Hos hanner blev i hjertemuskulaturen påvist myocardfibrose i varierende omfang. Tilstanden blev påvist hos 5 hanner ud af 14 hanner på hold 4 x Ce, hvorimod den ikke blev påvist på kontrolholdet og hold 1 x Ce. Frekvensen på hold 4 x Ce var signifikant større ($P < 0.05$) end på kontrolholdet.

4.5 Resultater fra F_1 -generationen

4.5.1 Kliniske observationer og dødelighed

Hvalpe, der døde inden for de første 4 uger efter fødsel, døde af kulde og/eller sult. Den samlede dødelighed i diegivningsperioden er omtalt ovenfor (jf. afs. 4.4.4). På hold 1 x Ce døde en hanhvalp 10/6-91 som følge af afmagring og utrivelighed. I hele opvækstperioden var sundhedstilstanden både for tæver og hanner meget god. Der blev ikke påvist unormale forhold og ingen dyr døde.

En tæve på kontrolholdet døde 21/1-92 af tarmbetændelse, og en tæve på hold 4 x Ce døde 18/2-92 af mave-tarmblødning. I diegivningsperioden døde to tæver på kontrolholdet af diegivningssyge. Hvalpe fra denne generation (F_2), som døde i diegivningsperioden, døde af kulde og/eller sult. Antallet af døde hvalpe fremgår af kuldtabet (jf. afs. 4.5.4).

4.5.2 Kropsvægt

Kropsvægten for hanner og tæver i vækstperioden og reproduktionsperioden frem til pelsning er vist i tabel 4.12-4.13. Der er ikke fundet forskelle i kropsvægt ($P > 0.05$) hverken for hanner eller tæver på de angivne tidspunkter. Vægtudviklingen for tæver i laktationsperioden er angivet i tabel 4.14. Ved de angivne ugentlige vejninger er der ikke påvist vægtforskelle ($P > 0.05$) mellem holdene. I tabel 4.15 er angivet vægten for han- og tævehvalpe på tilsvarende dage i laktationsperioden. Der er ikke påvist forskelle i kropsvægt ($P > 0.05$) for hvalpene i laktationsperioden.

Tabel 4.12 Kropsvægt (g) for hanner i F_1 -generationen
Body weight (g) for males in the F_1 generation

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	13		14		14	
Dato Date	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
16/7 -91	977	157	989	108	1000	79
13/8 -91	1441	168	1508	154	1492	100
10/9 -91	1761	258	1864	220	1844	195
8/10-91	1938	301	2011	339	2080	247
5/11-91	2006	312	2141	232	2156	259
9/12-91	1924	318	2075	239	2069	269
6/1 -92	1932	295	2068	239	2111	261
5/2 -92	1902	283	2032	219	2045	250
5/3 -92	1931	230	2002	191	2090	273

Tabel 4.13 Kropsvægt (g) for tæver i F_1 -generationen
Body weight (g) for females in the F_1 generation

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	28		28		28	
Dato Date	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
16/7 -91	714	73	725	66	735	70
13/8 -91	930	109	930	89	949	102
10/9 -91	992	122	1006	127	1053	136
8/10-91	1076	122	1097	132	1149	134
5/11-91	1105	137	1129	152	1166	149
9/12-91	1038	139	1032	154	1086	144
6/1 -92	1061	132	1079	155	1099	118
5/2 -92	997	136	1009	154	1043	123
5/3 -92	1002	130	1004	123	1013	114
3/4 -92	999	126	993	106	1012	94

Tabel 4.14 **Kropsvægt (g) for tæver i laktationsperioden i F_1 -generationen**
Body weight (g) for females during lactation in the F_1 generation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n	16		18		21	
Dag <i>Day</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
3	1022	111	1019	105	1006	90
10	1005	103	1008	116	998	97
17	971	94	969	111	951	106
24	961	88	964	127	928	94
31	945	93	959	125	932	90
38	863	95	901	110	895	92
45	816	83	863	118	839	78

Tabel 4.15 **Kropsvægt (g) for han- og tævehvalpe i laktationsperioden i F_1 -generationen**
Body weight (g) for male and female kits during lactation in the F_1 generation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
Hanner <i>Males</i>						
Antal kuld <i>No. of litters</i>	17		17		20	
Dag <i>Day</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
3	18	4,2	16	4,9	17	3,4
17	79	12	69	15	74	15
31	159	30	148	25	149	36
45	352	68	312	65	328	77
Tæver <i>Females</i>						
Antal kuld <i>No. of litters</i>	16		17		20	
Dag <i>Day</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
3	15	2,5	13	3,5	15	3,2
17	70	11	63	11	68	12
31	147	30	135	21	136	31
45	314	56	284	46	288	57

4.5.3 Foderoptagelse

Foderoptagelsen er for hanner og tæver målt en gang om måneden fra fravænning og frem til fødselstidspunktet og er vist i tabel 4.16-4.17. Den 5/2-92 blev dyrene fodret restriktivt, hvilket er normalt forud for parringsperioden i marts. Alle hannerne optog hele den tildelte fodermængde på 170 g om dagen, hvorfor standardafvigelsen på de anførte gennemsnitsværdier er nul. Mange af tæverne optog hele den tildelte fodermængde på 130 g om dagen, hvorfor standardafvigelsen på den gennemsnitlige foderoptagelse den pågældende dag er lavere end ved de øvrige målinger. Der er ikke fundet forskelle i foderoptagelse ($P > 0.05$) hverken for hanner eller tæver.

Tabel 4.16 Foderoptagelse (g/dag) for hanner i F_1 -generationen
Feed consumption (g/day) for males in the F_1 generation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n	13		14		14	
Dato <i>Date</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
22/7 -91	170	25	176	24	175	19
20/8 -91	161	22	160	23	172	12
16/9 -91	178	32	175	45	199	35
15/10-91	191	34	195	33	206	24
12/11-91	165	59	156	46	182	28
3/12-91	133	44	148	35	163	32
7/1 -92	250	17	258	10	249	23
5/2 -92	170	0	170	0	170	0
4/3 -92	250	32	266	2,9	258	18

Tabel 4.17 **Foderoptagelse (g/dag) for tæver i F_1 -generationen**
Feed consumption (g/day) for females in the F_1 generation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n	28		28		28	
Dato <i>Date</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
22/7 -91	139	21	124	17	131	20
20/8 -91	108	21	99	16	118	27
16/9 -91	116	20	107	20	104	29
15/10-91	139	36	130	25	143	29
12/11-91	124	42	113	27	123	41
3/12-91	94	33	93	28	108	35
7/1 -92	171	43	168	35	173	51
5/2 -92	127	10	128	7,2	128	8,3
4/3 -92	218	38	202	48	196	51
2/4 -92	181	51	194	44	186	44

4.5.4 Reproduktionsdata

I tabel 4.18 er antallet af avlshanner angivet. Hanner, der var kryptorchide, blev ikke benyttet til parring og indgår ikke i gruppen af avlshanner. Der var ikke forskel i frekvensen af kryptorchide hanner ($P > 0.05$) mellem holdene. Der er ikke fundet forskelle i antallet af avlshanner, der gennemførte parring ($P > 0.05$), og antallet af sterile hanner ($P > 0.05$) mellem holdene.

Tabel 4.18 **Antal kryptorchide hanner, antal avlshanner, heraf antal med parring og antal sterile i F_1 -generationen**
Number of cryptorchid males, number of breeding males including mated and sterile mates in the F_1 generation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>	1 x Ce	4 x Ce
Kryptorchide hanner ¹⁾ <i>Cryptorchid males</i>	3	1	2
Avlshanner <i>Breeding males</i>	13	14	13
m. parring <i>mated</i>	13	14	14
sterile <i>sterile</i>	2	2	2

1) Ud af 16 hanner pr. behandling.
In 16 males per treatment.

Antallet af avlstæver samt antallet heraf, der blev parret, og som var golde, fremgår af tabel 4.19. Der

er ikke fundet forskelle i frekvensen af de nævnte grupper ($P > 0.05$) mellem holdene. Goldprocenten var ca. dobbelt så stor i F_1 sammenlignet med F_0 ved alle behandlinger. Årsagen hertil er ukendt, men det antages at skyldes tilfældigheder, da goldprocenten generelt var høj på forsøgsfarmen det pågældende år.

Tabel 4.19 **Antal avlstæver, antal parrede tæver og antal golde tæver i F_1 -generationen**
Number of breeding females, number of mated females and number of barren females in the F_1 generation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>	1 x Ce	4 x Ce
Avlstæver <i>Breeding females</i>	28	28	28
Parrede tæver <i>Mated females</i>	28	27	27
Golde tæver <i>Barren females</i>	8	5	6

Kuldstørrelsen beregnet som antallet af fødte hvalpe pr. frugtbar tæve (tabel 4.20) var 5,2 hvalpe/kuld på kontrolholdet, 4,8 hvalpe/kuld ved 1 x Ce og 5,3 hvalpe/kuld og dermed størst ved 4 x Ce, standardafvigelsen var 2,0-2,2 hvalpe/kuld. Der var ikke statistisk signifikante forskelle i kuldstørrelse ($P > 0.05$) mellem holdene. Kuldtabet var 0,50-1,2 hvalpe/kuld, og der var ingen signifikante forskelle ($P > 0.05$) mellem holdene. Hovedparten af hvalpene døde inden for de første 9 levedøgn. Antallet af han- og tævehvalpe var stort ens på holdene, og der er ikke fundet forskelle i kønsfordelingen mellem holdene. Da der således ikke er interaktion mellem fodringen med ceronebehandlet byg og kønsfordelingen, er vægten for han- og tævehvalpe undersøgt hver for sig på lignende vis som i F_0 .

Tabel 4.20 **Antal hvalpe pr. kuld ved fødsel (kuldstørrelse) og antal døde hvalpe pr. kuld i diegivningsperioden (kuldtab) i F_1 -generationen**
Number of kits per litter at birth (litter size) and number of dead kits per litter in the nursing period (loss per litter) in the F_1 generation

Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
Antal kuld <i>No. of litters</i>	20		22		21	
	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
Kuldstørrelse <i>Litter size</i>	5,2	2,0	4,8	2,2	5,3	2,1
Kuldtab <i>Loss per litter</i>	0,50	0,95	1,2	1,8	0,86	1,2

4.5.5 Blodundersøgelser

Resultaterne af de hæmatologiske og klinisk-kemiske undersøgelser ved pelsning af hanner er vist i tabel 4.21. Der er for ingen af de undersøgte variabler fundet forskelle ($P > 0.05$) mellem holdene.

Tabel 4.21 Hæmatologiske og klinisk-kemiske undersøgelser af hanner i F₁-generationen, 25/3-91
Haematological and clinical-chemical examinations of males in the F₁ generation, 25/3-91

Behandling <i>Treatment</i>		Kontrol <i>Control</i>		1 x Ce		4 x Ce	
n		13		14		14	
Variabel <i>Variable</i>		Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>	Gns. <i>Mean</i>	s <i>SD</i>
Erythrocytter <i>Erythrocytes</i>	10 ¹² /l	7,5	0,70	7,2	0,39	7,1	0,45
Hæmatokrit <i>Haematocrit</i>	%	52	6,3	50	3,0	50	3,5
Hæmoglobin <i>Haemoglobin</i>	mmol/l	11,5	1,4	10,8	0,79	10,7	0,82
Middelcellevolumen <i>Mean corpuscular volume</i>	fl	70	2,3	69	1,3	70	1,5
Middelcellehæmoglobin <i>Mean corpuscular haem.</i>	fmol	1,54	0,06	1,49	0,06	1,50	0,06
Leukocyter <i>Leucocytes</i>	10 ⁹ /l	4,5	2,9	4,5	1,7	4,5	2,3
Segment. gran. <i>Segment. leu.</i>	%	56	9,7	51	17	51	14
Stavkern. gran. <i>Rod shaped leu.</i>	%	0,92	0,76	0,57	0,76	0,93	0,92
Eosinofile gran. <i>Eosinophil leu.</i>	%	6,2	4,9	5,1	4,2	7,1	8,0
Basofile gran. <i>Basophil leu.</i>	%	0,08	0,28	0,21	0,43	0,14	0,36
Lymfocytter <i>Lymphocytes</i>	%	32	7,8	39	15	36	13
Monocyter <i>Monocytes</i>	%	4,8	1,6	4,4	1,9	4,6	1,2
ASAT <i>ASAT</i>	μkat/l	2,0	1,7	2,4	2,9	1,7	0,56
ALAT <i>ALAT</i>	μkat/l	1,9	0,39	1,8	0,33	2,1	0,50
CK <i>CK</i>	μkat/l	13	28	16	33	7,5	6,0
Total protein <i>Total protein</i>	g/l	66	3,9	65	5,7	64	4,2
Urea <i>Urea</i>	mmol/l	5,8	2,2	5,7	1,7	5,2	1,0
Creatinin <i>Creatinine</i>	μmol/l	65	15	70	15	63	13

4.5.6 Organundersøgelser

Ved obduktionen af dyrene blev organerne bedømt makroskopisk, og hjerte, nyrer og lever blev vejet. Organerne blev ved den makroskopiske undersøgelse vurderet som normale hos både hanner og tæver. Organvægtene er angivet som relative vægte i forhold til kropsvægten og fremgår af tabel 4.22-4.23. For hanner er der ikke påvist forskel ($P > 0.05$) mellem holdene. For tæver, der blev aflivet ved fravænnning af F_2 (tabel 4.24), er der påvist en signifikant større relativ levervægt ($P < 0.001$) ved 4 x Ce ($5,9\% \pm 0,71\%$) end ved kontrolholdet ($4,7\% \pm 0,94\%$). For tæver, der var golde, eller som havde mistet alle hvalpe (tabel 4.23), blev der ikke fundet forskelle ($P > 0.05$) i relativ levervægt mellem holdene. Den største relative levervægt blev registreret på hold 1 x Ce ($5,3\% \pm 0,75\%$) og den laveste på hold 4 x Ce ($4,6\% \pm 0,28\%$), forskellen var dog ikke signifikant ($P > 0.05$).

Tabel 4.22 Kropsvægt (g) samt relative organvægte (%) af hanner i F_1 -generationen ved forsøgets afslutning 25/3-92

Body weight (g) and relative organ weights (%) of males in the F_1 generation at the end of the experiment 25/3-92

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	13		14		14	
	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
Kropsvægt (KV) <i>Body weight (BW)</i>	1598	219	1740	257	1749	255
Hjerte i % af KV <i>Heart in % of BW</i>	0,73	0,12	0,71	0,13	0,67	0,10
Nyre i % af KV <i>Kidney in % of BW</i>	0,71	0,08	0,68	0,08	0,67	0,09
Lever i % af KV <i>Liver in % of BW</i>	3,3	0,55	3,0	0,45	3,0	0,43

Tabel 4.23 Kropsvægt (g) samt relative organvægte (%) af tæver uden hvalpe i F₁-generationen den 26/5-92
Body weight (g) and relative organ weights (%) of females without kits in the F₁ generation on 26/5-92

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	10		10		6	
	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
Kropsvægt (KV) <i>Body weight (BW)</i>	933	159	864	175	970	104
Hjerte i % af KV <i>Heart in % of BW</i>	0,68	0,10	0,78	0,15	0,70	0,06
Nyre i % af KV <i>Kidney in % of BW</i>	0,70	0,08	0,74	0,11	0,66	0,09
Lever i % af KV <i>Liver in % of BW</i>	4,9	0,50	5,3	0,75	4,6	0,28

Tabel 4.24 Kropsvægt (g) samt relative organvægte (%) af tæver i F₁- generationen ved fravænning af hvalpe 24/6-92
Body weight (g) and relative organ weights (%) of females in the F₁ generation at weaning of kits on 24/6-92

Behandling Treatment	Kontrol Control		1 x Ce		4 x Ce	
n	17		18		21	
	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD	Gns. Mean	s SD
Kropsvægt (KV) <i>Body weight (BW)</i>	814	108	839	118	796	63
Hjerte i % af KV <i>Heart in % of BW</i>	0,81	0,21	0,82	0,12	0,84	0,20
Nyre i % af KV <i>Kidney in % of BW</i>	0,82	0,08	0,84	0,09	0,83	0,11
Lever i % af KV <i>Liver in % of BW</i>	4,7	0,94	5,6	0,45	5,9 ^{a)}	0,71

a) $P < 0.001$ (Kruskal-Wallis's test).

4.5.7 Histologiske undersøgelser

Ved de histologiske undersøgelser af døde dyr fandtes vævslæsioner, der svarede til diagnoserne stillet ved de makroskopiske kliniske undersøgelser.

Ved den histologiske undersøgelse af lunger, nyrer, lever og kønsorganer blev ikke påvist vævsfor-

ændringer hverken hos hanner eller tæver. Hos hanner, men ikke hos tæver, blev hos enkelte dyr påvist myocardfibrose. Myocardfibrose blev påvist hos 1 han på kontrolholdet, hos 3 hanner på hold 4 x Ce og ikke på hold 1 x Ce. Der var ikke signifikant forskel i frekvens mellem holdene ($P > 0.05$).

4.6 Diskussion og konklusion

Reproduktionen hos mink har ikke været påvirket af fodring med foder indeholdende 10% ceronebehandlet byg (20-25% af tørstoffet) i to på hinanden følgende generationer. Tre behandlinger af byg er undersøgt, ubehandlet byg (kontrol), byg sprøjtet med normaldosering af Cerone (1 x Ce) og byg sprøjtet med 4 gange normaldosering af Cerone (4 x Ce). Hos hanner var der ikke forskelle i testikeludvikling eller i frekvensen af sterile hanner. Antallet af tæver, der kom i oestrus, samt antallet af frugtbare tæver var ikke påvirket af fodringen. Endvidere var antallet af fødte og af mistede hvalpe pr. frugtbar tæve ikke påvirket af fodringen. Dette vurderes som resultat af, at fodringen ikke har påvirket antallet af ovulerede æg samt antallet af befrugtede og implanterede æg.

Ved de daglige observationer af dyrene blev ikke registreret unormale forhold. Dødeligheden var gennem hele forsøgsperioden lav på alle hold og ikke påvirket af fodringen, idet kun enkelte dyr døde på holdene.

Kropsvægten af hvalpe i laktationsperioden og opvækstperioden, af voksne forældredyr og af tæver i laktationsperioden har ikke været påvirket af fodringen med ceronebehandlet byg. På tilsvarende vis er der ikke fundet påvirkninger af foderoptagelsen. Resultaterne af de hæmatologiske undersøgelser har ikke været påvirket af fodringen med ceronebehandlet byg. De relative organvægte var hos hanner ikke forskellige på grund af fodringen. Hos frugtbare tæver i anden generation var den relative levervægt ved fravænnings af hvalpe større på hold 4 x Ce ($P < 0.001$) end på kontrolholdet. Dette vurderes ikke at skyldes fodringen men tilfældigheder, da den relative levervægt hos gølle tæver fra samme hold var mindre, dog ikke signifikant, end på de øvrige hold.

Ved de histologiske undersøgelser af organer blev kun i et organ og kun hos hanner påvist vævslæsioner. Det drejede sig om myocardfibrose i hjertemuskulaturen. Frekvensen af myocardfibrose var større på hold 4 x Ce ($P < 0.05$) end på kontrolholdet i første generation, mens der ikke var frekvensforskelle i anden generation. Myocardfibrose ses lejlighedsvis hos hanmink og formodes at have relation til komplekset nutritionel muskelgeneration (velfærdssyge), hvor de degenerative foci afhælder og efterlader fibrotiske foci. Om fibrotiske foci i hjertemuskulaturen påvirker minkene, er ukendt. Nutritionel muskelgeneration er en multifaktoriel lidelse, som optræder i efterårsmånederne hos hurtigtvoksende hanhvalpe (Brandt & Henriksen, 1986), og i varierende frekvens fra år til år. Sygdomskomplekset står i relation til indholdet af vitamin-E i foderet og til mængden og kvaliteten af fedtsyrer i foderet. I svære tilfælde dør dyrene pludseligt. Ved henværende undersøgelse døde ingen dyr af nutritionel muskeldegeneration, og sundhedstilstanden var ikke påvirket. Det kan ikke udelukkes, at de degenerative forandringer i hjertemuskulaturen hos hanmink i første generation er opstået inden fodringen med ceronebehandlet byg blev påbegyndt. Ved forsøg med Cerone hos mink i to generationer (Damgaard & Eggum 1993) blev myocardfibrose påvist ved 3000 ppm, men ikke ved 300 ppm i foderet, hvilket er koncentrationer langt højere end koncentrationen af Cerone i behandlet byg. På baggrund heraf, samt da frekvensen af myocardfibrose er forhøjet i første, men ikke i anden generation, anses den højere frekvens af myocardfibrose på hold 4 x Ce i første generation for at skyldes tilfældigheder og ikke for at være forsøgsrelateret.

Sammenfattende har reproduktionsforsøg i to generationer med ceronebehandlet byg hos mink vist, at reproduktionen hos hanner og tæver ikke var påvirket. Ligeledes var kropsvægt, foderoptagelse, hæmatologiske værdier samt makroskopiske og histologiske tilstande hos dyrene ikke påvirket.

5 Forsøg med høns

5.1 Materiale og metode

Forsøget er udført over 2 generationer, og til begge generationer er anvendt byg indhøstet i 1990, som beskrevet i kapitel 2. Da en generation har en længde af et år, vil de to udtryk for tidsforløb blive anvendt synonymt.

5.1.1 Hane- og hønemateriale

1. generation: Til forsøget blev der 22. juni 1990 indsat daggamle Lohmann LSL hane- og hønekyl-linger (kommercielle 3-vejs hybrider), der blev opdrættet på gulv. Kyllingerne var ved indsættelsen vaccineret mod Marek's Disease. Kyllingerne blev, til de var 16 uger gamle, fodret med Forsøgsan-læggets standardopdrætningsfoderblandinger. Da hønnikerne var 16 uger gamle, blev de vaccineret med dræbt IB-vaccine og overført til æglægningshuset, hvor de blev indsat i enkeltdyrsbure, og indtil de var 20 uger gamle fodret med de i afsnit 5.1.2 tabel 5.2 viste foderblandinger. Derefter og indtil forsøgets 1. generation blev afsluttet - med de i afsnit 5.1.2 tabel 5.3 viste æglægningsfoderblandinger.

Hanerne blev ligeledes 16 uger gamle vaccineret med dræbt IB-vaccine og overført til æglægnings-huset, hvor de blev fordelt med 11 haner til hver af 6 gulvrum. Hanerne blev fodret med de samme foderblandinger som hønerne.

2. generation: Til forsøgets 2. generation blev anvendt afkom af 1. generations avlshøns. Kyllingerne til denne del af forsøget blev udruget i uge 13, 1991. Disse kyllingerne blev opdrættet på gulv, til de var 15 uger gamle, hvorefter både haner og høner blev overført til æglægningshuset og indsat i enkeltdyrsbure. Kyllingerne blev som daggamle vaccineret mod Marek's Disease.

De første 8 uger blev kyllingerne fodret med de i tabel 5.1 anførte foderblandinger, fra 8-20 uger med de i tabel 5.2 anførte foderblandinger, og fra 20 uger og til forsøgets afslutning blev såvel høner som haner fodret med de i tabel 5.3 anførte foderblandinger.

Disse avlshøns er således fodret med de 3 partier byg fra de blev udruget og til forsøgets afslutning, medens deres forældre i deres foder fik de 3 partier byg, fra de var 16 uger og indtil afslutningen af forsøgets 1. generation.

5.1.2 Forsøgsfoder

Til forsøget blev på Forskningscenter Foulums foderblandingsfabrik fremstillet 3 starterfoderblandinger, 3 voksefoderblandinger og 3 æglægningsfoderblandinger af de i tabellerne 5.1, 5.2 og 5.3 anførte sammensætninger.

Tabel 5.1 Starterfoderets sammensætning
Composition of the start diet

Foderblanding	Feed mixture	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce
Byg, kontrol, %	Barley, Control, %	50,00	0,00	0,00
Byg, 1 x Ce, %	Barley, 1 x Ce, %	0,00	50,00	0,00
Byg, 4 x Ce, %	Barley, 4 x Ce, %	0,00	0,00	50,00
Majs, %	Maize, %	11,00	50,00	50,00
Havre, %	Oats, %	4,50		
Sojaskrå, toasted, %	Soyabean meal, toasted, %	19,75		
Kødbenmel, %	Meat-and-bone meal, %	3,00		
Fiskemel, askefattigt, %	Fishmeal, low in ash, %	4,00		
Fedt, animalsk, %	Animal fat, %	2,25		
Sojaolie, %	Soyabean oil, %	1,00		
Grønmel, %	Grass meal, %	2,20		
Vitaminer og mineraler, %	Vitamins and minerals	2,25		
Methionin (40% bl.), %	Methionine (40% mixture), %	0,05		
Ialt, %	Total, %	100,00	100,00	100,00
OE pr. kg foder, MJ	ME per kg diet, MJ	11,40	+	+
Råprotein, %	Crude protein, %	20,55	+	+
Råprotein pr. 10 MJ OE, g	Crude protein per 10 MJ ME, g	180	+	+

Foderet blev givet til kyllingerne som 2 mm piller. De i tabel 5.1 anførte foderblandinger blev anvendt i forsøgets 2. generation fra kyllingerne var 0 til 8 uger gamle.

I tabel 5.2 er vist voksefoderets sammensætning. Som det ses, har alle 3 foderblandinger samme sammensætning, bortset fra de anvendte partier byg.

Tabel 5.2 Voksefoderets sammensætning
Composition of the grower diet

Foderblanding	Feed mixture	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce
Byg, kontrol, %	Barley, control, %	65,00	0,00	0,00
Byg, 1 x Ce, %	Barley, 1 x Ce, %	0,00	65,00	0,00
Byg, 4 x Ce, %	Barley, 4 x Ce, %	0,00	0,00	65,00
Havre, %	Oats, %	20,80	35,00	35,00
Kødbenmel, askefattigt, %	Meat-and-bone meal, low in ash, %	2,00		
Fiskemel, askefattigt, %	Fishmeal, low in ash, %	2,00		
Fedt, animalsk, %	Animal fat, %	3,00		
Grønmel, %	Grass meal, %	5,00		
Vitaminer og mineraler	Vitamins and minerals	2,20		
Ialt, %	Total, %	100,00	100,00	100,00
OE pr. kg foder, MJ	ME per kg diet, MJ	11,60	+	+
Råprotein, %	Crude protein, %	13,10	+	+
Råprotein pr. 10 MJ OE, g	Crude protein per 10 MJ ME, g	113	+	+

Foderet blev givet som pellet cross. De i tabel 5.2 viste foderblandinger blev i forsøgets 1. generation fodret til såvel haner som hønniker, fra de var 16 til 20 uger gamle. I forsøgets 2. generation blev de fodret til kyllingerne fra de var 8 til 20 uger gamle.

Til æglægningsperioden blev avlshønerne i begge forsøgets generationer fodret med de i tabel 5.3 anførte æglægningsfoderblandinger, fra de var 20 uger gamle og indtil forsøgenes afslutning.

Tabel 5.3 *Æglægningsfoderets sammensætning*
Composition of the layer diet

Foderblanding	Feed mixture	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce
Byg, kontrol, %	Barley, control, %	50,00	0,00	0,00
Byg, 1 x Ce, %	Barley, 1 x Ce, %	0,00	50,00	0,00
Byg, 4 x Ce, %	Barley, 4 x Ce, %	0,00	0,00	50,00
Havre, %	Oats, %	14,30	50,00	50,00
Sojaskrå, toasted, %	Soyabean meal, toasted, %	11,30		
Kødbenmel, askefattigt, %	Meat-and-bone meal, low in ash, %	5,60		
Fiskemel, askefattigt, %	Fish meal, low in ash, %	2,00		
Fedt, animalsk, %	Animal fat, %	4,80		
Sojaolie, %	Soyabean oil, %	1,20		
Grønmel, %	Grass meal, %	3,00		
Methionin, (40% bl.), %	Methionine (40% mixture), %	0,40		
Lysin, (40% bl.), %	Lysine (40% mixture), %	0,05		
Vitaminer og mineraler, %	Vitamins and minerals, %	7,35		
Ialt, %	Total, %	100,00	100,00	100,00
OE pr. kg foder, MJ	ME per kg diet, MJ	11,30		
Råprotein, %	Crude protein, %	17,00		
Råprotein pr. 10 MJ OE, g	Crude protein per 10 MJ OE, g	150		

Foderet blev givet som pellet cross. Såvel starterfoder, voksefoder som æglægningsfoder var sammensat, så de i alle henseender dækkede dyrenes behov for essentielle næringsstoffer i henhold til de af NRC (1984) anbefalede normer.

5.1.3 Inseminering af hønerne

Da hønerne gik i enkeltdyrsæglægningsbure, blev hønerne insemineret ved kunstig sædoverførsel. I en periode før sædopsamlingen, til insemineringen blev påbegyndt, blev hanerne trænet i at afgive sæd, hvorefter deres sædmængde og -kvalitet blev bestemt.

Insemineringen af hønerne blev påbegyndt en uge, før indsamlingen af rugeæg blev påbegyndt. Den første uge blev alle hønerne insemineret 2 gange, derefter de følgende 3 uger en gang pr. uge. Hønerne blev pr. gang insemineret med 0,1 ml sæd.

For at være sikker på at få udruget tilstrækkeligt med kyllinger til forsøgets 2. generation, blev hønerne det første år insemineret med blandet sæd.

I forsøgets 2. generation blev hønerne insemineret med sæd fra de enkelte haner som vist i forsøgsplanen (tabel 5.4). Hver hane blev, som det ses af denne, brugt til 6 høner. Da der sjældent vil blive afgivet 0,6 ml sæd eller mere pr. hane pr. opsamling, blev hanerne tappet for sæd 2 gange pr. uge. Hver hane var tildelt 6 høner, og efter ugens første tapning blev de 6 høner insemineret fra laveste til højeste hønenummer - efter anden tapning fra højeste til laveste nummer.

5.1.4 Udrugning af kyllinger

I hvert af de 2 år blev der indlagt æg i rugemaskinen 4 på hinanden følgende uger. Hver uge blev hele ugens produktion af æg fra hver enkelt høne lagt til rugning, dog blev ekstremt små og ekstremt store æg samt knækæg frasorteret, således at kun normale rugeæg blev lagt til rugning.

Første år blev der lagt æg til rugning i uge 8, 9, 10 og 11 - hønerne var da fra 34 til 38 uger gamle. Andet år blev æggene lagt til rugning i uge 7, 8, 9 og 10 - forældredyrene var da fra 46 til 50 uger gamle. Begge år blev æggene stamruget. Den dag, æggene blev lagt i maskinen, blev det noteret, hvor mange æg der blev lagt ind for hver høne. Efter 6 døgn rugning blev æggene gennemlyst, og ubefrugtede æg blev noteret for hver høne og fjernet. Efter 18 dages rugning blev æggene igen gennemlyst. Æg med døde fostre blev noteret og fjernet, og de resterende æg blev lagt i stamruginingsbokse og overført til klækemaskinen. Efter at æggene var klækket, blev kyllingerne på 22. dagen efter indlægningen i rugemaskinen vingemærket, talt og noteret, og som kontrol blev eventuelle uklækkede æg talt op og noteret. Summen af æg fralyst på 6. og 18. dagen samt antal kyllinger og uklækkede æg blev afstemt med det antal æg, der var lagt til rugning fra den enkelte høne.

5.1.5 Ægundersøgelser

I løbet af forsøgsperioden blev der det 1. år foretaget 4 ægundersøgelser og i forsøgets 2. generation 5 ægundersøgelser. Hver gang blev der indsamlet en dagsproduktion af æg. Æggene blev vejjet enkeltvis dagen efter indsamlingen og slået ud den følgende dag, hvorefter højden af den tykke æggehvite blev målt. Æggeskallen blev vasket fri for æggehvite og stillet til lufttørring ved stuetemperatur. Efter at skallerne var blevet tørre, blev de vejjet og procent æggeskal beregnet.

5.1.6 Forsøgsplan

Hvert af de 2 år blev der indsat $3 \times 80 = 240$ høner i forsøget. Inden indsætningen var der trukket lod om, i hvilket bur hønerne på de 3 slags byg skulle indsættes. Hønerne blev hvert år vejjet ved forsøgets start, da de var 20 uger gamle og igen ved forsøgets afslutning. Ægydelsen pr. høne blev gjort op hver uge, og alle æg blev vejjet. Hønerne blev fodret individuelt, og den enkelte hønes foderforbrug blev opgjort hveranden uge. Alle data blev opsamlet på en microcomputer i æglægningshuset og senere behandlet på Forskningscentrets EDB-anlæg.

Der er ikke foretaget behandling af syge dyr. Døde haner og høner blev noteret på dødsdagen, og dødsårsagen er fastslået ved obduktion.

Med hensyn til rugeforsøget blev dette lagt til rette som et 3×3 faktorielt forsøg med henblik på at undersøge, om en eventuel effekt af ceronebehandlet byg på æggenes befrugtning og/eller rugbarhed kunne henføres til hanerne eller hønerne.

Den første faktor var høner fodret med de 3 forskellige partier byg, og den anden faktor var haner fodret med de 3 forskellige partier byg. Tabellarisk blev rugeforsøget udført efter den i tabel 5.4 viste plan, der viser én af de i alt 12 gentagelser.

Tabel 5.4 **Forsøgsplan for produktion af rugæg. Antal høner pr. hane**
Experimental Oplan for production of hatching eggs. Number of hens per cock

Parringspartner <i>Mating partner</i>		Høner - Hens		
	Behandling <i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>	1 x Ce	4 x Ce
Haner <i>Cocks</i>	Kontrol <i>Control</i>	2	2	2
	1 x Ce	2	2	2
	4 x Ce	2	2	2

Rugeforsøget blev således i hvert af de 2 år udført med $12 \times 18 = 216$ høner. Det første år blev anvendt 15-20 haner pr. behandling, og sæden blev pooled inden for behandling. Det andet år blev anvendt 12 haner pr. behandling, og sæden fra en given hane blev anvendt til 6 høner i samme gentagelse. Fra hver af de 3 grupper høner blev der 8 høner tilovers. Disse blev brugt som reservehøner til rugeforsøget. Formålet med disse reservehøner var, at de under rugeforsøget skulle erstatte høner, som måtte være døde i tidsrummet, fra hønerne blev indsat i enkeltdyrsburene, og indtil udrukningsforsøget blev påbegyndt.

En høne, der således indgik i rugeforsøget som erstatning for en død høne, blev ikke flyttet fra eget til den døde hønes bur, men blev hvor den var indsat ved overførslen fra opdrætningshus til æglægningshus.

Substitutionen blev foretaget ved, at reservehønerne med det til enhver tid laveste nummer erstattede den døde høne.

Som det ses af planen, blev 6 høner insemineret med sæd fra samme hane.

Forsøgene er udført i henhold til de anvisninger, der er givet i OECD-guideline for testing of chemicals "Avian Reproduction Test" nr. 206, adopted 4 April 1984, hvilke anvisninger svarer til Fjerkræafdelings normale procedure.

5.1.7 Statistiske analyser

De statistiske beregninger er udført i SAS. For så vidt det angår det enkelte køns produktionsresultater, er den statistiske bedømmelse foretaget ved hjælp af t-test, og behandlingernes indflydelse på dødeligheden ved hjælp af Chi²-test (Snedecor, 1959).

Analyserne vedrørende udrukningsresultaterne er udført efter proceduren for generelle lineære modeller ved anvendelse af nedenstående flerfaktorielle model med vekselvirkning og gentagelser:

$$(1) \quad Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + C_k + \epsilon_{ijk}$$

hvor

- Y_{ijk} = egenskab
- μ = middelværdien
- α_i = ceronebehandling af høner, $i = 1, 2, 3$
- β_j = ceronebehandling af haner, $j = 1, 2, 3$
- $(\alpha\beta)_{ij}$ = vekselvirkning mellem ceronebehandling af høner og ceronebehandling af haner
- C_k = gentagelser (forsøg), $k = 1, 2, 3 \dots 12$
- ϵ_{ijk} = den tilfældige variation [$\sim N(0, \sigma^2)$]

Ceronebehandling af såvel høner som haner indgår i modellen med systematisk virkning, mens gentagelser indgår med tilfældig virkning. Alle vekselvirkninger, hvor gentagelser indgår, er således tilfældige og derfor ikke medtaget i modellen, men indgår i den tilfældige variation (ϵ_{ijk}).

Duncan-test er anvendt til undersøgelse af, om der er signifikante forskelle på 95 % niveauet mellem de forskellige behandlinger.

For flere af de undersøgte egenskaber er der i den anvendte model fundet en signifikant virkning af gentagelser. For at afgøre, om dette skyldes høner eller haner inden for en gentagelse, er resultaterne for de pågældende egenskaber undersøgt i følgende flerfaktorielle, nestede model, som tager højde for ceronebehandlingen af henholdsvis høner og haner inden for hver af de 12 gentagelser (forsøg):

$$(2) \quad Y_{ijk} = \mu + \alpha_{i(k)} + \beta_{j(k)} + C_k + \epsilon_{ijk}$$

hvor

$\alpha_{i(k)}$	=	ceronebehandling af høner inden for en gentagelse, $i = 1, 2, 3$
$\beta_{j(k)}$	=	ceronebehandling af haner inden for en gentagelse, $j = 1, 2, 3$
C_k	=	gentagelser (forsøg), $k = 1, 2, 3 \dots 12$

De øvrige parametre er som anført til hovedmodellen tidligere.

Styrkefunktionen for ceronebehandling af haner inden for hver gentagelse ($\beta_{j(k)}$) er testet ved hjælp af t-test for least-square-means, idet nulhypotesen er opstillet således:

$$H_0: \text{LSMEAN (I)} = \text{LSMEAN (II)}$$

5.2 Resultater og diskussion

5.2.1 Hønernes produktionsresultater

I tabel 5.5 er anført resultaterne fra 1. forsøgsårs æglægningsperiode, der varede 20 uger, fra hønerne var 20 til 40 uger gamle.

Tabel 5.5 **Kropsvægt, ægydelse og foderforbrug (1. år)**
Body weight, egg yield and feed consumption (1st year)

Behandling	Treatment	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce	
Antal høner indsat	No. of hens housed	80	80	80	
Antal døde	No. of dead hens	0	0	1	
Hønevægt, 20 uger gl., g	Hen weight, 20 weeks of age, g	1283±12	1275±13	1269±12	NS*
Tilvækst fra 20 til 40 uger, g	Body weight gain from 20 to 40 weeks, g	586±16	556±16	566±18	NS
Alder ved 25% lægning, dage	Age at 25% lay, days	153±3,8	152±4,0	154±3,5	NS
Æg pr. indsat høne	Eggs per housed hen	113±1,1	114±1,8	114±1,6	NS
Æg pr. overlevende høne	Eggs per survived hen	113±1,1	114±1,8	115±1,4	NS
Ægmasse pr. overlevende høne, kg	Egg mass per survived hen, kg	6,75±0,07	6,80±0,10	6,76±0,08	NS
Ægvægt, g	Egg weight, g	59,5±0,40	59,5±0,39	59,0±0,36	NS
Foder pr. høne, kg	Feed per hen, kg	15,20±0,13	15,06±0,15	14,83±0,14	NS
Foder pr. kg ægmasse, kg	Feed per kg egg mass, kg	2,26±0,02	2,21±0,02	2,19±0,03	NS

* NS = ikke signifikant, NS = non-significant.

Beregnet som konfidensinterval = $S\bar{x} \cdot t_{0.05}$ fremgår af tabel 5.5, at der ikke er signifikant forskel mellem behandlingerne med hensyn til hønevægt 20 uger, tilvækst pr. høne fra 20 til 40 uger, hønealder ved 25% lægning, æg pr. indsat høne, æg pr. overlevende høne, ægmasse pr. høne, ægvægt, foderoptagelse pr. høne eller kg foder pr. kg æg. Det bør dog bemærkes, at der forekommer et fald i hønernes foderoptagelse og i kg foder pr. kg æg med den stigende dosering af Cerone. Dødelighed forekom ikke hos høner, der fik byg kontrol og byg 1 x Ce. Hos hønerne fodret med byg 4 x Ce døde en høne, hvilket svarer til, hvad der normalt vil forekomme.

Fodring med foder indeholdende byg fra mark behandlet med indtil 4 x normaldosering Cerone, har således ikke haft hverken negativ eller positiv statistisk sikker virkning på æglæggende hønens produktionsresultater.

Af tabel 5.6 fremgår resultaterne fra æglægningsperioden i forsøgets 2. generation. I dette tilfælde varede kontrolperioden 40 uger, fra hønerne var 20 til 60 uger gamle.

Tabel 5.6 Kropsvægt, ægdelse og foderforbrug (2. år)
Body weight, egg yield and feed consumption (2nd year)

Behandling	Treatment	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce	
Antal høner indsat	No. of hens housed	80	80	79	
Antal døde	No. of dead hens	3	1	9	
Hønevægt, 20 uger gl., g	Hen weight, 20 weeks of age, g	1383±16	1397±15	1372±17	NS
Tilvækst fra 20 til 60 uger, g	Body weight gain from 20 to 60 weeks, g	272±21	312±19	304±18	NS
Alder ved 1. æg, dage	Onset of lay, days	140,8±1,1	136,6±1,0	139,3±1,5	NS
Æg pr. indsat høne	Eggs per housed hen	240±4,67	238±3,79	224±7,16	NS
Æg pr. overlevende høne	Eggs per survived hen	245±2,59	240±3,33	243±3,31	NS
Ægmasse pr. overlevende høne, kg	Egg mass per survived hen, kg	14,5±0,17	14,5±0,22	14,6±0,22	NS
Ægvægt, g	Egg weight, g	59,3±0,48	60,3±0,43	60,0±0,53	NS
Foder pr. høne, kg	Feed per hen, kg	29,7±0,30	29,6±0,32	29,2±0,31	NS
Foder pr. kg ægmasse, kg	Feed per kg egg mass, kg	2,05±0,03	2,04±0,04	2,00±0,04	NS

Af tabel 5.6 ses, at der heller ikke i dette forsøg er signifikant forskel mellem de tre hønegrupper for de før omtalte parametre. Ligesom i første års forsøg er der i dette forsøg tendens til faldende foderoptagelse og forbedret foderomsætning med stigende koncentration af Cerone i den sprøjtevæske, marken er blev behandlet med i vækstsæsonen.

Når det gælder antal høner, der døde i æglægningsperioden, viser det sig, at der i hønegruppen fodret med foder indeholdende byg fra mark sprøjtet med 4 x normaldosering Cerone, forekommer flere døde. Dødsårsagen for den enkelte høne samt den statistiske vurdering heraf vil blive omtalt i afsnit 5.2.7.

Bortset fra døde høner fremgår af begge forsøg, at fodring med ceronebehandlet byg ingen statistisk sikre negative eller positive effekter har på hønernes produktionsresultater.

5.2.2 Ægundersøgelser

Resultatet af ægundersøgelserne i forsøgets første år ses i tabel 5.7.

Tabel 5.7 Hvidehøjde og skalprocent (1. år)
Height of albumen and shell percentage (1st year)

Behandling	Treatment	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce	
Antal æg undersøgt	<i>No. of eggs examined</i>	290	291	287	
Hvidehøjde, mm	<i>Height of albumen, mm</i>	4,6±0,06	4,5±0,07	4,5±0,07	NS
Skalprocent	<i>Shell percentage</i>	9,5±0,04	9,6±0,04	9,6±0,04	NS

Af tabel 5.7 ses, at forsøgsbehandlingen ingen indflydelse har haft på æggenes hvide- og skalkvalitet. I forsøgets 2. år var resultaterne af ægundersøgelserne som vist i tabel 5.8.

Tabel 5.8 Ægkvalitetsparametre (2. år)
Parameters of egg quality (2nd year)

Behandling	Treatment	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce	
Antal æg undersøgt	<i>No. of eggs examined</i>	329	334	315	
Hvidehøjde, mm	<i>Height of albumen, mm</i>	5,4±0,05	5,3±0,05	5,5±0,06	NS
Skalprocent	<i>Shell percentage</i>	9,1±0,04	9,2±0,05	9,1±0,05	NS
Knækæg, %	<i>Cracked eggs, %</i>	0,03±0,01	0,03±0,01	0.00	NS
Æg med blodpletter, %	<i>Blood spotted eggs, %</i>	0,01±0,01	0,01±0,01	0.00	NS

Af tabel 5.8 ses, at i det 2. forsøgsår har forsøgsbehandlingen heller ingen statistisk indflydelse haft på æggenes kvalitet. Begge år er der undersøgt langt flere æg fra hver af de tre forsøgsbehandlinger end strengt nødvendigt. Sammenfattende kan det konstateres, at fodring med byg fra ceronebehandlet mark ingen - hverken negativ eller positiv - indflydelse har på æggenes hvide- og skalkvalitet eller på frekvensen af knækæg og æg med blodpletter på æggeblommen.

5.2.3 Hanernes sædkvalitet

Det første forsøgsår blev hanerne, da de var 30 uger gamle, trænet nogle dage i at afgive sæd, hvorefter sædens kvalitet blev undersøgt. Resultatet af denne undersøgelse er anført i tabel 5.9.

Tabel 5.9 Hanernes sædkvalitet (1. år)
Semen quality (1st year)

Behandling	Treatment	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce
Haner indsat	Cocks housed	22	22	20
Sædproducerende haner, %	Semen producing cocks, %	64	68	56
Døde og/eller deforme sædceller, %	Dead and/or deform sperm cells, %	20±2,4	16±1,1	23±2,9

Af tabel 5.9 fremgår, at lidt færre haner fodret med foder indeholdende byg behandlet med 4 x Ce producerede sæd på undersøgelsestidspunktet end hanerne, der havde fået foder indeholdende de to andre partier byg. Ligeledes var der - især sammenlignet med haner, der fik byg 1 x Ce i deres foder - flere døde og/eller deforme sædceller (bøjet hale) i sæden fra hanerne, der fik byg 4 x Ce. Forskellen mellem de tre grupper var dog ikke statistisk sikker på 95% niveauet. Da insemineringen af hønerne begyndte, var antallet af sædproducerende haner i alle 3 grupper betydeligt større end på det tidspunkt, undersøgelsen blev foretaget.

Det andet forsøgsår var hanerne noget ældre, da de blev brugt som sæddonor. Hanerne var 41 uger gamle, da de blev trænet i at afgive sæd, og ugen efter blev deres sædkvalitet undersøgt. Resultatet af denne undersøgelse er vist i tabel 5.10.

Tabel 5.10 Hanernes sædkvalitet og dødelighed (2. år)
Semen quality and mortality of the cocks (2nd year)

Behandling	Treatment	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce
Haner indsat, 105 dage gamle	Cocks housed, 105 days of age	20	20	20
Døde fra 105-294 dage gamle	Dead from 105-294 days of age	3	1	3
Sædproducerende haner, %	Semen producing cocks, %	100	100	100
Sædmængde, score ¹⁾	Semen quantity, score ¹⁾	2,9±0,2	2,7±0,3	2,5±0,3
Livlighed, score ²⁾	Viability, score ²⁾	2,9±0,3	2,7±0,3	2,7±0,3
Døde og/eller deforme sædceller, %	Dead and/or deform sperm cells, %	8±1,5	11±2,5	8±1,2

1) Score 1 = lille mængde/low volume, score 4 = stor mængde/high volume.

2) Score 1 = lav livlighed/low viability, score 4 = stor livlighed/high viability.

Af tabel 5.10 fremgår, at alle haner producerede sæd på undersøgelsestidspunktet, hvor hanerne var 294 dage gamle. Sædmængden blev bedømt efter et pointsystem, og det ses, at med stigende koncentration af Cerone i sprøjtevæsken, hvormed bygparcellen var behandlet, var sædmængden faldende. Andelen af døde og deforme sædceller var her i forsøgets andet år meget mindre end i forsøgets første år. Især bør det bemærkes, at hanerne, der i deres foder fik byg behandlet med 4 x normaldosens Cerone, producerede sæd hvor andelen af døde og/eller deforme sædceller er af nøjagtig samme størrelse som hos hanerne, der fik kontrolfoder.

Hverken med hensyn til sædmængde, koncentrationen af sædceller, sædcellernes livlighed eller andelen af døde og deforme celler var der signifikant forskel på 95% niveauet mellem de 3 hanegrupper.

På grundlag af undersøgelsen blev som sæddonorer udvalgt 12 haner fra hver af de 3 foderbehandlinger. De udvalgte haner var dem, der afgav den største mængde sæd med de færreste døde og/eller deforme sædceller.

5.2.4 Æggenes befrugtning og rugbarhed

Resultaterne fra 1. års udrugningsforsøg vil fremgå af følgende tabeller. I tabel 5.11 er vist antal æg indlagt til rugning fra hver af de 9 forsøgsbehandlinger.

Tabel 5.11 **Antal æg indlagt i rugemaskinen (1. år)**
No. of eggs placed in incubator (1st year)

Haner - Cocks	Høner - Hens			Total
	Kontrol <i>Control</i>	1 x Ce	4 x Ce	
Kontrol - <i>Control</i>	466	496	476	1438
1 x Ce	490	456	487	1433
4 x Ce	481	473	508	1462
Total	1437	1425	1471	4333

Af tabel 5.11 fremgår det, at i alt 4333 æg blev lagt i rugemaskinen svarende til 20 æg pr. høne. Fra hver af de 9 forsøgsbehandlinger er indlagt omtrent lige mange æg til rugning. I gennemsnit er der indlagt 481 æg pr. behandling.

I tabel 5.12 er vist, hvor mange procent af æggene der var befrugtede.

Tabel 5.12 **Procent befrugtede æg (1. år)**
Percentage of fertile eggs (1st year)

Haner - Cocks	Høner - Hens			Gns. <i>Mean</i>
	Kontrol <i>Control</i>	1 x Ce	4 x Ce	
Kontrol - <i>Control</i>	95,8	93,4	95,6	94,9
1 x Ce	96,2	95,3	96,8	96,1
4 x Ce	96,8	96,3	95,6	96,2
Gns. - Mean	96,2	95,0	96,0	95,7±0,34

Af tabel 5.12 ses, at i gennemsnit var 95,7% af æggene befrugtede. Hverken på hane- eller hønesiden ses en systematisk effekt af de anvendte partier byg på æggenes befrugtning. Det er hanerne, som fik det usprøjtede byg, der giver den laveste befrugtning af æggene, medens det på hønesiden var hønerne,

som i deres foder fik byg 1 x Ce, der har de dårligst befrugtede æg. Disse afvigelser fra den gennemsnitlige befrugtningprocent er dog ikke statistisk sikre.

Antallet af æg fralyst på 18. rugedag giver oplysninger, om der i æggene er stoffer, som dræber fostret, eller om der i ægget mangler stoffer, som sikrer en normal fosterudvikling. I tabel 5.13 er vist procent æg fralyst på 18. rugedag.

Tabel 5.13 **Æg (%) fralyst 18. rugedag (1. år)**
Eggs (%) with dead embryo at 18th hatching day (1st year)

Haner - Cocks	Høner - Hens			
	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce	Gns. Mean
Kontrol - Control	1,57	1,08	0,88	1,18
1 x Ce	0,21	0,66	1,06	0,64
4 x Ce	0,86	0,66	1,44	0,99
Gns. - Mean	0,88	0,80	1,13	0,94±0,14

Af tabel 5.13 ses det, at 0,94% af fostrene i de befrugtede æg var døde på 18. rugedag, hvilket knap nok svarer til, hvad der forekommer under praktiske forhold. Der er relativt set temmelig stor variation mellem de 9 grupper, men ikke systematiske variationer, der kan relateres til forsøgsbehandlingen.

I tabel 5.14 er anført procent kyllinger af befrugtede æg.

Tabel 5.14 **Kyllinger (%) af befrugtede æg (1. år)**
Chickens (%) of fertile eggs (1st year)

Haner - Cocks	Høner - Hens			
	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce	Gns. Mean
Kontrol - Control	92,8	92,7	94,8	93,4
1 x Ce	94,3	88,5	93,4	92,1
4 x Ce	89,9	95,7	93,9	93,2
Gns. - Mean	92,3	92,3	94,0	92,9±0,77

Af tabel 5.14 fremgår det, at der blev udruget 92,9% kyllinger af de befrugtede æg, hvilket er et særdeles tilfredsstillende resultat. Hverken på hane- eller hønesiden forekommer statistisk sikre forskelle på grund af forsøgsbehandlingerne.

I tabel 5.15 er vist procent kyllinger af indlagte æg.

Tabel 5.15 **Kyllinger (%) af indlagte æg (1. år)**
Chickens (%) of eggs set (1st year)

Haner - Cocks	Høner - Hens			
	Kontrol <i>Control</i>	1 x Ce	4 x Ce	Gns. <i>Mean</i>
Kontrol - Control	89,1	86,5	90,7	88,8
1 x Ce	90,7	84,5	90,5	88,6
4 x Ce	87,0	92,3	89,9	89,7
Gns. - Mean	88,9	87,8	90,4	89,0±0,83

Af tabel 5.15 ses, at der i gennemsnit blev udruget 89,0% kyllinger af indlagte æg, hvilket må anses for at være særdeles tilfredsstillende, især i betragtning af at befrugtningen af æggene er sket ved kunstig sædooverførsel. Hverken på hane- eller hønesiden ses systematisk statistisk sikre forskelle i procent kyllinger af indlagte æg på grund af forsøgsbehandlingerne.

I tabel 5.16 er vist æggenes klækbarhed, udtrykt som % af ikke-klækkede æg af de æg, som blev overført til klækkeren på 18. rugedag.

Tabel 5.16 **Procent ikke-klækkede æg (1. år)**
Percentage of non-hatched eggs (1st year)

Haner - Cocks	Høner - Hens			
	Kontrol <i>Control</i>	1 x Ce	4 x Ce	Gns. <i>Mean</i>
Kontrol - Control	5,46	6,08	4,65	5,40
1 x Ce	5,32	9,53	5,58	6,81
4 x Ce	8,89	3,54	4,38	5,60
Gns. - Mean	6,56	6,38	4,87	5,94±0,67

Af tabel 5.16 ses, at 5,94% af de æg, hvori der var levende fostre på 18. rugedag, ikke klækkede. Årsagen til dette kan skyldes tre forhold, nemlig:

1. at kyllingerne generelt har været for svage til at arbejde sig ud af æggeskallen,
2. at æggeskallen har været for tyk, således at fordampningen af vand fra ægget har været for lille under rugning, hvilket medfører, at kyllingen ikke kan dreje sig rundt i skallen og få hul på den,
3. at æggeskallen har været for tynd, således at fordampningen har været for stor, hvilket medfører, at kyllingen tørrer fast til æggeskallens hinder.

Det ses, at fodring med ceronebehandlet byg ikke har haft indflydelse på de befrugtede ægs klækbarhed.

I de følgende tabeller er vist resultaterne fra udrugningsforsøget i forsøgets 2. generation. I tabel 5.17 ses antal æg lagt til udrugning i denne del af forsøget.

Tabel 5.17 **Antal æg indlagt i rugemaskinen (2. år)**
No. of eggs set in incubator (2nd year)

Haner - Cocks	Høner - Hens			Total
	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce	
Kontrol - Control	571	567	568	1715
1 x Ce	564	561	582	1707
4 x Ce	573	567	585	1725
Total	1708	1704	1735	5147

Af tabel 5.17 ses, at i alt 5147 æg svarende til 23,8 æg pr. høne er lagt til rugning. Efter hver af de 3 x 12 haner svarer det til 143 æg pr. hane.

Af tabel 5.18 fremgår, hvor mange procent af æggene der var befrugtede.

Tabel 5.18 **Procent befrugtede æg (2.år)**
Percentage of fertile eggs (2nd year)

Haner - Cocks	Høner - Hens			Gns. Mean
	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce	
Kontrol - Control	86,2	87,0	88,9	87,4
1 x Ce	89,4	86,1	89,3	88,3
4 x Ce	85,2	88,9	79,5	84,5
Gns. - Mean	86,9	87,3	85,9	86,7 ± 1,04

Af tabel 5.18 ses, at 86,7% af de indlagte æg var befrugtede. Dette er betragteligt mindre end i 1. år (tabel 5.10). De lavere befrugtningprocenter var dog forventet, idet hønerne i denne del af forsøget er insemineret med sæd fra individuelle haner. En procedure, der altid vil resultere i lavere befrugtningprocent end tilfældet er, når høner insemineres med en blanding af sæd fra flere haner, sådan som tilfældet var 1. år.

I tabel 5.19 er anført % fralyste æg på 18. rugedag, hvilket omfatter de æg, hvor fostret er død fra 6. til 18. rugedag.

Tabel 5.19 *Æg (%) fralyst 18. rugedag (2. år)*
Eggs (%) with dead embryo at 18th hatching day (2nd year)

Haner - Cocks	Høner - Hens			
	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce	Gns. Mean
Kontrol - Control	2,23	1,40	2,97	2,20
1 x Ce	2,58	0,62	1,15	1,45
4 x Ce	2,25	2,38	2,15	2,26
Gns. - Mean	2,35	1,47	2,09	1,97±0,25

Af tabel 5.19 fremgår, at dobbelt så stor en andel af æg blev fralyst på 18. rugedag end 1. år, nemlig 1,97 mod 0,94%.

I tabel 5.20 er anført procent kyllinger af befrugtede æg.

Tabel 5.20 *Kyllinger (%) af befrugtede æg (2. år)*
Chickens (%) of fertile eggs (2nd year)

Haner - Cocks	Høner - Hens			
	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce	Gns. Mean
Kontrol - Control	87,6	89,0	88,5	88,4
1 x Ce	85,1	81,8	87,9	84,9
4 x Ce	85,0	86,5	88,8	86,8
Gns. - Mean	85,9	85,8	88,4	86,7±0,79

Af tabel 5.20 fremgår, at procent kyllinger af befrugtede æg udgjorde 86,7%. Det er 6,2 procentenheder færre end i første års rugning, hvor der blev opnået 92,9% kyllinger af befrugtede æg.

Procent kyllinger af indlagte æg er anført i tabel 5.21.

Tabel 5.21 Kyllinger (%) af indlagte æg (2. år)
Chickens (%) of eggs set (2nd year)

Haner - Cocks	Høner - Hens			
	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce	Gns. Mean
Kontrol - Control	75,5	77,4	78,7	77,2
1 x Ce	76,1	70,4	78,5	75,0
4 x Ce	72,4	76,9	70,6	73,3
Gns. - Mean	74,7	74,9	75,9	75,2±1,73

Af tabel 5.21 fremgår, at der blev udruget kyllinger af 75,2% af de indlagte æg, hvilket er 13,8 procentenheder lavere end året før. Forskellen kan hovedsageligt forklares med, at der 1. år blev insemineret med sæd blandet fra flere haner, medens hønerne 2. år blev insemineret med sæd fra individuelle haner.

I tabel 5.22 er vist hvor mange % af de æg, der blev overført fra rugemaskinen til klækkeren på 18. rugedag, der ikke klækkede.

Tabel 5.22 Procent ikke-klækkede æg (2. år)
Percentage of non-hatched eggs (2nd year)

Haner - Cocks	Høner - Hens			
	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce	Gns. Mean
Kontrol - Control	10,40	9,72	8,57	9,56
1 x Ce	12,63	17,71	11,28	13,87
4 x Ce	13,00	11,38	9,23	11,20
Gns. - Mean	12,01	12,93	9,69	11,54±0,91

Af tabel 5.22 ses, at 11,54% af de æg, hvori der var et levende foster på 18. rugedag, ikke klækkede, hvilket er næsten dobbelt så stor en andel som i første forsøgsår.

I tabel 5.23 er anført variansanalyserne for de foran omtalte udrugningsparametre for 2. år.

Tabel 5.23 Middelkvadrater og signifikansniveauer for forskellige egenskaber i 2. år ved anvendelse af den flerfaktorielle model med vekselvirkning og gentagelser. Befrugtede æg (a), kyllinger af befrugtede æg (b), kyllinger af indlagte æg (c), døde fostre 6.-18. rugedag (d) og ikke-klækkede æg (e).

Mean squares and level of significance for different characters in the 2nd year by use of the multi-factorial model with interaction and replications. Fertile eggs (a), chickens of fertile eggs (b), chickens of eggs set (c), dead embryos, 6th-18th day of hatching (d), and non-hatched eggs (e)

Variationsårsag <i>Cause of variation</i>	Middelkvadrat <i>Mean squares</i>					
	DF	a	b	c	d	e
Total <i>Total</i>	215	-	-	-	-	-
Høner (α_i) <i>Hens</i>	2	26,75	68,66	41,43	10,64	94,36
Haner (β_j) <i>Cocks</i>	2	196,61	133,56	344,12	15,36	195,03
Høner x haner ($\alpha\beta$)_{ij} <i>Hens x cocks</i>	4	351,29	138,73	415,12	12,04	163,77
Gentagelser <i>Replications</i>	11	666,09**	346,26	762,41*	12,43	327,51
Restvariation <i>Error</i>	196	264,06	248,10	349,88	10,47	242,73

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Variansanalysen på grundlag af model (1) har ikke fundet nogen signifikante forskelle mellem haner henholdsvis høner, som er fodret med de tre forskellige foderblandinger. Dette gælder for alle de undersøgte egenskaber. Derimod er der for to af egenskaberne en signifikant effekt af gentagelser (tabel 5.23). Disse kan dog henføres til samme kilde, nemlig befrugtningsprocenten.

Tabel 5.24 Middelkvadrater og signifikansniveauer for udvalgte egenskaber i 2. år ved anvendelse af den flerfaktorielle, nestede model med gentagelser. Befrugtede æg (a), kyllinger af befrugtede æg (b), kyllinger af indlagte æg (c), døde fostre 6.-18. rugedag (d) og ikke-klækkede æg (e).

Mean squares and level of significance for different characters in the 2nd year by use of the multi-factorial nested model with replications. Fertile eggs (a), chickens of fertile eggs (b), chickens of eggs set (c), dead embryos, 6th-18th day of hatching (d), and non-hatched eggs (e).

Variationsårsag <i>Cause of variation</i>	Middelkvadrat <i>Mean squares</i>					
	DF	a	b	c	d	e
Total <i>Total</i>	215	-	-	-	-	-
Høner, gentagelse¹ <i>Hens, replication¹</i>	24	193,15	283,18	328,75	7,14	276,57
Haner, gentagelse² <i>Cocks, replication²</i>	24	666,85***	389,23*	752,85***	17,42*	357,56*
Gentagelser <i>Replications</i>	11	666,09	346,26	762,41**	12,43	327,52
Restvariation <i>Error</i>	156	211,33	214,42	288,78	10,01	215,32

1 Høner inden for gentagelse - Hens within replication $\alpha_{i(k)}$.

2 Haner inden for gentagelse - Cocks within replication $\beta_{j(k)}$.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Gentagelserne har ikke beslaglagt så meget af den totale variation, at der forekommer signifikante behandlingseffekter. Ved brug af den nestede variansanalyse model (2) fremgår, at signifikante forskelle mellem gentagelser skyldes signifikant forskel mellem haner inden for en gentagelse (tabel 5.24).

Da der ikke er signifikant forskel for nogen af de undersøgte egenskaber på, om hanerne er fodret med kontrol, 1 x Ce eller 4 x Ce foder (tabel 5.23), medens der for de samme egenskaber er en signifikant forskel på hanerne inden for gentagelser, må dette tilskrives en generel forskel på hanernes reproduktionsevne, som ikke kan tilskrives foder med ceronebehandlet byg. Fænomenet er velkendt, idet der altid findes store individuelle forskelle på haners reproduktionsevne, uanset de er behandlet ens.

Avlshanerne, som er anvendt 2. år, er endvidere F_1 -afkom efter forældre, som begge er 3-vejs hybrider. Sådanne F_1 -hybrider vil pr. definition repræsentere en, genetisk set, meget heterogen population, idet de forskellige individer genotypisk kan besidde en meget varieret proportion af gener fra de oprindelige 3 oldeforældrelinier. Således vil der også være stor variation i bl.a. reproduktionsevnen, når sådanne individer anvendes til avl.

En tilsvarende samlet variansanalyse var ikke mulig at foretage i første undersøgelse, fordi sæden fra haner var pooled, men der er ingen grund til at antage, at denne ville falde anderledes ud jvf. gennemgangen af de enkelte egenskaber.

5.2.5 Dødelighed i kyllingernes første 14 levedage

Efter at kyllingerne var optalt og vingemærket, blev de overført til opdrætningshuset og holdt under kontrol i 14 dage for at undersøge, om deres forældres fodring påvirkede deres levedygtighed. Dødeligheden blandt kyllingerne det første år fremgår af tabel 5.25.

Tabel 5.25 Døde kyllinger (%) fra 0 til 14 dage gamle (1. år)
Dead chickens (%) from 0 to 14 days of age (1st year)

Haner - Cocks	Høner - Hens			
	Kontrol <i>Control</i>	1 x Ce	4 x Ce	Gns. <i>Mean</i>
Kontrol - <i>Control</i>	2,17	2,78	0,93	1,96
1 x Ce	2,02	1,80	2,50	2,11
4 x Ce	2,14	1,60	1,97	1,90
Gns. - <i>Mean</i>	2,11	2,06	1,80	1,99±0,18

Af tabel 5.25 fremgår, at 1,99±0,18% af kyllingerne døde i løbet af de første 14 levedage. En Chi²-test viste, at forskellen mellem behandlingerne ikke var statistisk sikre.

På grund af en misforståelse er informationerne om dødeligheden de første 14 levedage fra 2. års kyllingerne gået tabt. Forsøgsteknikeren, der passede kyllingerne, har mundtligt rapporteret, at dødeligheden var usædvanlig lav.

5.2.6 Testiklernes størrelse

Da insemineringen af hønerne var afsluttet, blev - i andet forsøgsår - alle hanerne aflivet og obduceret. Testiklerne blev taget ud og vejte, og deres vægt fremgår af tabel 5.26.

Tabel 5.26 Testiklernes vægt, g
Weight of testicles, g

Behandling	<i>Treatment</i>	Kontrol <i>Control</i>	1 x Ce	4 x Ce
Antal haner obduceret	<i>No. post-mortem examined cocks</i>	17	19	17
Testikelvægt	<i>Weight of testicles</i>	9,20±1,81	7,60±1,36	9,60±1,64
Confidential interval	<i>Confidential interval</i>	(5,36 - 13,04)	(4,74 - 10,46)	(6,12 - 13,08)
Mindste vægt	<i>Lowest weight</i>	0,88	0,65	1,71
Største vægt	<i>Highest weight</i>	30,24	20,72	25,82

Af tabel 5.26 ses, at der inden for alle tre hanegrupper er meget store variationer på testiklernes vægt. Hanerne, der i deres foder har fået 1 x Ce behandlet byg, har en lavere gennemsnitlig testikelvægt end hanerne i de 2 andre grupper. Dette må dog tilskrives tilfældigheder, idet der ikke er signifikant forskel mellem de 3 hanegrupper.

Hos haner fodret med kontrolfoder blev der hos en hane konstateret blødende mavesår "Ulcus proventriculi" og hos en anden "Atherosclerose". Testikelvægten hos disse to haner var i gennemsnit 8,20 g. Hos hanerne fodret med 1 x Ce behandlet byg blev der ikke konstateret sygelige forandringer, medens en hane fra gruppen fodret med 4 x Ce behandlet byg led af hjertedilatation. Testiklerne hos denne hane vejede 2,71 g.

Der er således intet der tyder på, at anvendelse af byg behandlet med Cerone i vækstperioden giver anledning til makroskopisk sygelige forandringer hos haner.

5.2.7 Dødelighed og dødsårsager hos avlshønsene

Det første år døde 1 høne ud af en flok på 240 høner og 60 haner i en periode på 20 uger, mens der i 2. år døde 13 høner + 7 haner ud af en flok på samme størrelse over en periode på 40 uger. Under almindelige produktionsforhold ville der i de to perioder blive forventet en dødelighed på ca. 6 dyr det første år og ca. 12 dyr det andet år. De observerede dødeligheder ligger således omkring det almindelige niveau. Af tabel 5.27. fremgår, at der for høner i 2. år var en signifikant effekt af behandling, og ved nærmere studie af tabellen ses, at mens 1 x Ce tenderer til at reducere dødeligheden, så har 4 x Ce-behandlingen forøget dødeligheden så meget, at den bliver signifikant for 2. års høner. Ved en uafhængighedstest i en 2 x 2 tabel inden for høner i 2. år viser det sig, at signifikansen skyldes forskel i dødsraten mellem høner, der fik 1 x Ce og 4 x Ce behandlet byg ($P < 0.025$), mens de to øvrige muligheder (kontrol versus 1 x Ce og kontrol versus 4 x Ce) ikke viste signifikans ved χ^2 -test ($P > 0.05$).

Tabel 5.27 Samlet oversigt over dødelighed
Overall mortality

Generation Generation	Køn Sex	Antal Number	Kontrol Control	1 x Ce	4 x Ce	Signifikans* Significance*
1	♀♀	Indsat - placed	80	80	80	$P > 0.05$
1	♀♀	Døde - dead	0	0	1	
2	♀♀	Indsat - placed	80	80	79	$P < 0.01$
2	♀♀	Døde - dead	3	1	9	
2	♂♂	Indsat - placed	20	20	20	$P > 0.05$
2	♂♂	Døde - dead	3	1	3	

* Testet med χ^2 i 2 x 3 tabel - Tested with χ^2 in an 2 x 3 table.

Obduktionsresultaterne af døde dyr i 2. år viser, at der blandt de 9 døde høner fra 4 x Ce behandlingen var 2 døde som følge af lymfoid leukose, 2 havde uspecifiseret nyrelidelse, 1 havde urinsyreigt, 1 havde coronarsclerose, mens der blandt de 3 døde høner fra kontrolholdet var 1 død som følge af lymfoid leukose. Blandt de døde haner blev der for de 3 fra 4 x Ce behandlingen fundet 1 med uspecifik nyrelidelse og 1 med "Ulcus proventriculi", mens 2 af de 3 døde haner fra kontrolgruppen led af hjertesækødem.

Det fremgår således, at dødsårsager fordeler sig ret tilfældigt.

5.3 Konklusion

Fodring af avlshøns og deres afkom med foder indeholdende 50% byg, der i vækstsæsonen var sprøjtet med indtil 4 x normaldosering af stråforkorteren Cerone, har ingen indflydelse haft på hønernes ydelse, foderforbrug, foderomsætning eller æggenes kvalitet.

Æggenes befrugtning og rugeresultaterne var heller ikke - hverken på høne- eller hanesiden - påvirket af fodring med omtalte byg, ligesom der ikke forekom vekselvirkning mellem høner og haner på rugeresultaterne. Det samme var tilfældet med hensyn til afkommets levedygtighed de første 14 dage efter udrugningen.

Hønernes levedygtighed i 2. år var påvirket af den anvendte koncentration af Cerone, idet dødeligheden var større hos hønerne fodret med byg behandlet med 4 x Cerone end hos hønerne fodret med byg behandlet med 0 og 1 x Cerone. Tilsvarende effekter kunne ikke påvises for høner i første år eller for haner generelt.

Anerkendelse

Scantox, Hestehavevej 36 A, Ejby, P.O. Box 30, DK-4623 Lille Skensved, har forestået gennemførelsen af forsøgene med rotter. Dette gælder alle de beskrevne aspekter i herværende rapport såvel som den statistiske analyse af forsøgsresultaterne. Uden den faglige ekspertise, som findes hos Scantox, havde det ikke været muligt for os at gennemføre dette projekt i overensstemmelse med OECD principperne for Good Laboratory Practice. Herved overbringes alle hos Scantox, som har været involveret i projektet, vor oprigtige tak for den meget professionelle indsats.

De histologiske undersøgelser på mink er gennemført af Statens Veterinære Serumlaboratorium i Århus ved Per Henriksen. På Statens Veterinære Serumlaboratorium forefindes faciliteter og ekspertise til gennemførelse og vurdering af histologiske undersøgelser, som ikke forefindes på Statens Husdyrbrugsforsøg. Forsøgsteknikere og laboranter ved afdelingen har samvittighedsfuldt udført den daglige pasning af dyrene, dataindsamling samt laboratoriearbejde. Alle involverede takkes for deres indsats.

Forsøgstekniker Jens Karl Mølgaard har forestået den daglige pasning af hønerne, medens forsøgstekniker Egon Jespersen har stået for pasningen af opdrættet. Forsøgstekniker Henriette Panstrup har udført ægundersøgelserne. Cand.agro. Aage Petersen har forestået inseminering af hønerne, rugning og mærkning af kyllingerne, samt vaccination af de daggamle kyllinger. Fjerkræforvalter Jørg Bonnichsen har behandlet de indsamlede data og foretaget en væsentlig del af de statistiske beregninger.

Korrespondent Hanne Artved og assistenterne Inge Koch Knudsen og Helle Quist Kristensen har renskrevet og opsat manuskripterne. Uden hjælp fra alle involverede partnere havde det ikke været muligt at gennemføre projektet, hvorfor alle bringes vor oprigtige tak for god og dygtig indsats.

Litteratur

- Bech Andersen, B., Madsen, P., Klastrup, S., Ovesen, E. & Philipsen, H. 1990. Roundup- og Ceronebehandlet halm og kerne i fuldfoder til ungtyre. 668. Ber. fra Statens Husdyrbrugsforsøg.
- Brandt, A. & Henriksen, P. 1986. Total blood plasma CK enzyme activity related to myocardial degeneration in mink. Nord. Vet. Med. 38, 163-166.
- Bushy Run Research Center 1989. Lifetime Dietary Combined Chronic Toxicity and Oncogenicity Study with Ethephon in Albino Rats. Sponsor: Rhone-Poulenc Ag Company. Final Report No. 51-501, 16/5-89.
- Bushy Run Research Center 1990. Two-Generation Reproduction Study in CD Albino Rats Exposed to Ethephon by Dietary Inclusion. Sponsor: Rhone-Poulenc Ag Company. Final Report No. 51-539, 17/5-90.
- Damgaard, B.M. & Eggum, B.O. 1993. Upublicerede data.
- Danielsen, V. & Eklundh Larsen, A. 1989. CCC-behandlet hvede som foder og strøelse til smågrise og sopolte. Medd. nr. 748 fra Statens Husdyrbrugsforsøg.
- Danielsen, V., Eklundh Larsen, A. & Binder, M. 1989. CCC-behandlet hvede som foder og strøelse til gylte og l. lægssøer. Medd. nr. 749 fra Statens Husdyrbrugsforsøg.
- Danielsen, V. & Eklundh Larsen, A. 1990. Roundup- og Ceronebehandlet byg til svin. 677. Ber. fra Statens Husdyrbrugsforsøg.
- Hazleton Laboratories America, Inc. 1989. Teratology Study with Ethephon Technical-Base 250 in Rats. Sponsor: Rhone-Poulenc Ag Company. Final Report No. HLA 6224-125, 6/4-1989.
- Larsen, T., Eggum, B.O. & Brandt, A. & Kirknel, E. 1988. Effekten af at tilsætte stråforkortningsmidlet Cerone direkte i foderet. 1. Forsøg med rotter. Medd. nr. 706 fra Statens Husdyrbrugsforsøg.
- Larsen, T., Eggum, B.O., Damgaard, B.M. & Kirknel, E. 1990. Påvirker stråforkortningsmidlet Cerone byggets anvendelighed som foder? 2. Forsøg med rotter. Medd. nr. 757 fra Statens Husdyrbrugsforsøg.
- National Research Council, 1984. Nutrient Requirements of Poultry. 8th revised edition. National Academy Press. 2101 Constitution Ave., N.W. Washington, DC 20148.
- OECD 1983 (Organization for Economic Cooperation and Development). OECD Guidelines for Testing of Chemicals. Appendix Section 4 - Health Effects, No. 416, 26/5-83.
- OECD 1984 - OECD-Guideline for testing of chemicals "Avian Reproduction Test" No. 206, 4/4-84.
- SAS Institute Inc. 1987. SAS/STAT™ Guide for Personal Computers, Version 6 Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc., 1028 pp.
- SAS-Procedures, 1987. Users Guide: "SAS/STAT Version 6.03", SAS Institute, P.O. Box 10066, Raleigh, North Carolina 27605, USA.
- Snedecor, G.W. 1959. Statistical Methods, The Iowa State College Press, Ames, Iowa.
- StatXact-Procedure, 1989. Users Manual, Cytel Software Corporation, Cambridge, MA 02139, USA.

