

289. beretning fra forsøgslaboratoriet.

Udgivet af Statens Husdyrbrugsudvalg.

Fortyndingsgradens
indvirkning på tyresæds
befrugtningsevne

Ved

Knud Rottensten og Henry Andersen

The effect of
dilution rate on the fertility of
bull semen.



I kommission hos August Bangs forlag,

Ejvind Christensen.

Vesterbrogade 60, København V.

Trykt i Frederiksberg Bogtrykkeri.

1956

STATENS HUSDYRBRUGSFORSØG

Statens Husdyrbrugsudvalg

Forstander *Johs. Petersen-Dalum*, Hjallese, formand,
gårdejer *Johs. Jensen*, Tostrup, Stege,
(valgte af De samvirkende danske Landboforeninger),
konsulent *J. Albrechtsen*, Aarhus,
parcellist *Th. Larsen*, Rye, Kirke-Saaby,
(valgte af De samvirkende danske Husmandsforeninger),
forstander *L. Lauridsen*, Graasten, næstformand,
(valgt af Det kongelige danske Landhusholdningsselskab),
proprietær *K. Røhr Lauritzen*, Demstruggård, Sjørslev,
(valgt af Landsudvalget for Svineavlens Ledelse),
gårdejer *N. L. Hesselund Jensen*, Malling,
(valgt af Landsudvalget for Fjerkræavlens),
gårdejer *J. Gylling Holm*, Tranebjerg, Samsø,
(valgt af De samvirkende Kvægavlsforeninger med kunstig sædovertføring).
Udvalgets sekretær: kontorchef, landbrugskandidat *H. Ærsøe*.

Landøkonomisk Forsøgslaboratorium

Dyrefysiologisk afdeling

Forstander: professor *P. E. Jakobsen*.
Forsøgsleder: cand. polyt. *I. G. Hansen*,
— landbrugskandidat *Grete Thorbek*.

Husdyrbrugsafdelingerne

Forsøg med kvæg:

Forstander: professor *L. Hansen Larsen*.
Forsøgsleder: landbrugskandidat *H. Wenzel-Eskedal*,
— landbrugskandidat *K. Hansen*,
— landbrugskandidat *Johs. Brolund Larsen*.

Forsøg med svin, heste og pelsdyr:

Forstander: professor, dr. *Hj. Clausen*.
Forsøgsleder: landbrugskandidat *Fr. Haagen Petersen*,
— landbrugskandidat *N. J. Højgaard Olsen*,
— landbrugskandidat *R. Nørtoft Thomsen*.

Forsøg med fjerkræ:

Forsøgsleder: lektor, landbrugskandidat *J. Bælum*.

Avlsbiologiske forsøg:

Forsøgsleder: lektor, dr. agro. *J. Nielsen*.

Kemisk afdeling

Forstander: cand. polyt. *J. E. Winther*.
Afdelingsleder: ingeniør *H. C. Beck*,
— mejeribrugskandidat *K. Steen*.

Statistisk afdeling

Beregner: dyrlæge *A. Neimann-Sørensen*.

Kontor og sekretariat

Kontorchef: landbrugskandidat *H. Ærsøe*.
Sekretær: landbrugskandidat *H. Bundgaard*.
Bogholder: *Sv. Vind-Hansen*.

Udvalgets, forsøgslaboratoriets og afdelingernes adresse er:
Rolighedsvej 25, København V.

Til

Statens Husdyrbrugsudvalg.

Under henvisning til § 2, stk. 3, i forretningsordenen for Fællesudvalget vedrørende Den kgl. Veterinær- og Landbohøjskoles institut for sterilitetsforskning, fremsendes hoslagt en fra forstander K. Rottensten modtaget beretning om fortyndingsgradens indvirkning på tyresæds befrugtningsevne, hvilken forstanderen gerne ønsker offentliggjort i Landøkonomisk Forsøgslaboratoriums publikationer.

København, den 24. april 1956.

På fællesudvalgets vegne

Thorkil-Jensen.

/ A. Paludan.

Fællesudvalget vedr. Den kgl. Veterinær- og Landbohøjskoles institut for sterilitetsforskning har med foranstående følgeskrivelse fremsendt nærværende beretning, der har været forelagt Statens Husdyrbrugsudvalg. I henhold til § 11 i forretningsordenen for statens husdyrbrugsforsøg godkendes den hermed til offentliggørelse i forsøgsvirksomhedens publikationer.

København, juli 1956.

Johs. Petersen-Dalum.

Holger Ærsøe.

**Oversigt over udsendte beretninger
fra Den kgl. Veterinær- og Landbohøjskoles institut for
sterilitetsforskning.**

1952. 259. ber. Vibrio fetus som årsag til ufrugtbarhed hos kvæg. (2,50 kr.).
1953. 265. — Forsøg med tilsætning af penicillin og streptomycin til fortyndingsvædsken. (1,50 kr.).
1954. 271. — Sammenlignende forsøg med fortyndingsvædske tilsat 500 og 1000 enheder streptomycin pr. ml. (2 kr.).
1954. 274. — I. De sæsonmæssige svingninger i de ydre brunstsymptomers styrke og regelmæssighed. II. Virkningen af jodbehandling mod symptomløs omløbning. III. Virkning af udklemning af det gule legeme mod manglende brunst. (2 kr.).
1954. 275. — Fortsatte undersøgelser over Vibrio fetus som årsag til ufrugtbarhed hos kvæg. (2 kr.).
1955. 280. — Foreløbig undersøgelse over sammenhæng mellem ydelse og frugtbarhed i malkekvægavlen. (2,50 kr.).
1956. 289. — Fortyndingsgradens indvirkning på tyresæds befrugtningsevne. (2,50 kr.).

Forord.

Fortyndingsgradens indflydelse på sædens befrugtningsevne er et problem, som man daglig står overfor i insemineringsarbejdet. I det praktiske arbejde er udslag på nogle ganske få procentenheder i drægtighedsresultaterne af stor økonomisk betydning. For at fastslå de små udslag med fornøden sikkerhed kræves et meget stort forsøgsmateriale. Takket være Aarhusegnens kvægavlsforening og denne forenings inseminører har det været muligt at gennemføre tre fortyndingsforsøg i årene 1952 til 1955. For denne bistand bringes foreningens ledelse og dens inseminører hermed vor bedste tak.

Knud Rottensten.

INDHOLD

	Side
Oversigt over udsendte beretninger fra Den kgl. Veterinær- og Landbohøjskoles institut for sterilitetsforskning	4
Forord	5
Litteratur	9
I. Sammenlignende forsøg med fortyndingerne 1 : 15 og 1 : 31	9
II. Sammenligning mellem fortyndingerne 1 : 15, 1 : 31 og 1 : 47	11
III. Sammenligning mellem fortyndingerne 1 : 15, 1 : 31 og 1 : 47	14
Diskussion	17
Konklusion	23
English summary	24
Litteratur	26

Litteratur.

Salisbury og medarbejdere har gennemført en række forsøg til belysning af fortyndingsgradens indflydelse på frugtbarheden. I det første forsøg (1), hvor den højeste fortyndingsgrad var 16, fandt man uforandret frugtbarhed ved stigende fortynding. I et senere forsøg (2) forøgede man fortyndingsgraden til 50, men heller ikke her fandt man noget fald i frugtbarheden ved stigende fortynding. I et tredje forsøg (3) forøgedes fortyndingsgraden til 100, og selv for denne høje fortynding var frugtbarheden ikke påviseligt forskellig fra frugtbarheden ved de lavere fortyndinger. I et sidste forsøg (4) varierede fortyndingsgraden mellem 100 og 400, og i dette forsøg fremkom et fald i frugtbarheden ved stigende fortynding. I et forsøg af Bratton og medarbejdere (5) fortyndedes sæden til henholdsvis 14,3, 9,5 og 4,7 millioner levende celler pr. insemineringsdosis, og man fik henholdsvis 70,5, 70,9 og 66,7 pct. ikke-omløbere efter 60–90 dage. 4,7 millioner sædceller pr. insemineringsdosis gav således dårligere befrugtningresultater end 9,5 og 14,3, men for de to sidste var der ingen sikker forskel. Willett og Larson (6) sammenlignede fortyndingerne 100 og 300 og fik 68,6 pct. ikke-omløbere for fortyndingen 100 og 60,8 for fortyndingen 300, eller en forskel på 7,8 procentenheder til fordel for den laveste fortynding. Ved gruppering efter sædceller pr. insemineringsdosis fandtes stigende frugtbarhed med stigende antal sædceller pr. insemineringsdosis. I et senere forsøg sammenlignede Willett (7) atter fortyndingerne 100 og 300, og fandt denne gang en forskel på 5,8 procentenheder til fordel for fortyndingen 100. Ved insemineringerne på 1. dag efter sædopsamlingen var forskellen 3,3 og 2. dagen 7,9 pct. Nedgangen i frugtbarheden ved stigende fortynding syntes således at vokse med sædens alder på insemineringstidspunktet. Branton og medarbejdere (8) har ligeledes beskæftiget sig med fortyndingsgrader og er kommet til det resultat, at dersom man fortynder til konstant antal sædceller pr. insemineringsdosis, vil sædens befrugtningsevne være uafhængig af sædens oprindelige koncentration.

I. Sammenlignende forsøg med fortyndingerne 1:15 og 1:31.

I tiden fra 14. april til 5. juli 1952 sammenlignedes de to fortyndingsgrader 1 : 15 og 1 : 31. Hvert ejakulat blev først fortyndet 15

Tabel 1. Drægtighedsprocent ved fortynding 1:15 og 1:31 (14 april—5. juli 1952).
(Conception rate at dilution 1:15 and 1:31).

Tyr (Bull) No.	1:15						1:31					
	1. ins.		Senere ins. Later ins.		Ialt Total		1. ins.		Senere ins. Later ins.		Ialt Total	
	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.
1	374	61,2	285	55,8	659	58,9	372	60,2	264	54,2	636	57,7
2	531	53,9	260	47,3	791	51,7	514	52,9	267	45,7	781	50,4
3	530	60,4	298	52,7	828	57,6	543	51,0	288	53,1	831	51,7
4	581	51,8	417	49,6	998	50,9	672	56,3	386	48,7	1058	53,5
5	393	59,7	250	57,6	643	58,9	403	62,5	251	51,4	654	58,3
6	58	60,3	53	47,2	111	54,1	85	49,4	48	43,7	133	47,4
7	595	62,5	522	53,6	1117	58,4	567	59,1	516	51,0	1083	55,2
8	195	57,9	141	45,4	336	52,7	217	48,4	123	48,0	340	48,2
9	173	51,4	137	48,9	310	50,3	168	53,6	98	40,8	266	48,9
10	40	47,5	25	40,0	65	44,6	47	59,6	24	54,2	71	57,7
11	12	50,0	13	46,2	25	48,0	39	46,2	6	50,0	45	46,7
12	30	43,3	23	52,2	53	47,2	31	38,7	20	25,0	51	33,3
13	103	56,3	51	45,1	154	52,6	125	60,8	74	55,4	199	58,8
14	100	57,0	63	47,6	163	53,4	97	52,6	63	57,1	160	54,4
Ialt	3715	57,4	2538	51,5	6253	55,0	3880	55,7	2428	50,1	6308	53,5

∞

gange, hvorpå man udtog en passende mængde, hvis rumfang fordobledes ved tilsætning af fortyndingsvædske. Fortyndingsgraden blev derfor for denne portion 1 : 31. Til fortyndingen blev anvendt flydende citratfortyndingsvædske, der indeholdt 1000 enheder dihydrostreptomycin pr. ml, og til fortyndingsvædsken tilsattes ca. 20 pct. æggeblomme. Fire inseminører fik sæd fortyndet 15 gange, og fire fik sæd fortyndet 31 gange. Hver uge skiftedes, således at de fire inseminører, der i den foregående uge havde benyttet sæd fortyndet 15 gange, nu fik sæd fortyndet 31 gange og omvendt. En insemineringsdosis var på ca. $\frac{3}{4}$ ml. Insemineringsresultaterne fremgår af tabel 1.

Ved 1. insemineringerne viste 9 af de 14 tyre bedst resultat ved 15 ganges fortynding, og gennemsnittet for alle tyre blev 1,7 procentenheder bedre for fortyndingen 15 gange i sammenligning med 31 ganges fortynding. For samtlige insemineringer var fortyndingen 1:15 bedst for 10 af tyrene, og i gennemsnit blev drægtighedsprocenten ved 15 ganges fortynding $1,5 \pm 0,89$ procentenheder højere end ved 31 ganges fortynding.

II. Sammenligning mellem fortyndingerne 1:15, 1:31 og 1:47.

I et nyt forsøg, der strakte sig over tiden fra 3. august 1953 til 31. januar 1954, sammenlignedes fortyndingsgraderne 15, 31 og 47. Planen for dette forsøg var den samme som for det foregående, blot var inseminørerne i dette forsøg inddelt i tre grupper, der i en given uge anvendte henholdsvis fortyndingen 15, 31 og 47. De tre grupper skiftede fortyndingsgrad hver uge, således at hver enkelt inseminørs insemineringer blev fordelt nogenlunde ligeligt på de tre fortyndingsgrader.

Som det fremgår af tabel 2, omfatter forsøget 24.908 insemineringer. Fortyndingen 1 : 15 har givet det bedste resultat, nemlig 53,7 drægtige pr. 100 insemineringer. Fortyndingen 1 : 31 har produceret 50,7 drægtigheder pr. 100 insemineringer, hvilket giver en forskel på $3,0 \pm 0,77$ procentenheder, hvilket er en statistisk sikker forskel. 14 af forsøgets 18 tyre har givet bedre resultat ved fortyndingen 1 : 15 end ved 1 : 31, fire forholdt sig omvendt. Resultatet for fortyndingen 1 : 47 gav praktisk talt det samme resultat som fortyndingen 1 : 31, nemlig 50,6 drægtigheder pr. 100 insemineringer.

I flertallet af de i dette forsøg anvendte sædprøver blev foretaget koncentrationsbestemmelse ved tælling i blodtællekammer. Der er her ved tilvejebragt mulighed for beregning af antal sædceller pr. insemineringsdosis.

Tabel 2. Drægtighedsprocent ved fortynding 1:15, 1:31 og 1:47 (3. aug. 1953—31. jan. 1954).

(Conception rate at dilution 1:15, 1:31 and 1:47).

Tyr Bull No.	1:15						1:31						1:47					
	1. ins.		Senere ins. Later ins.		Ialt Total		1. ins.		Senere ins. Later ins.		Ialt Total		1. ins.		Senere ins. Later ins.		Ialt Total	
	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.
1	162	61,7	115	53,0	277	58,1	170	60,6	129	51,2	299	56,5	132	52,3	93	37,6	225	46,2
2	214	64,0	219	53,4	433	58,7	197	60,9	196	50,0	393	55,5	214	56,5	237	54,9	451	55,7
3	153	47,1	148	46,6	301	46,8	169	46,7	113	50,4	282	48,2	125	40,0	112	33,9	237	37,1
4	114	49,1	124	39,5	238	44,1	135	50,4	124	41,9	259	46,3	121	43,8	118	47,5	239	45,6
5	324	62,7	286	47,6	610	55,6	350	52,9	261	52,5	611	52,7	346	60,1	258	49,6	604	55,6
6	505	58,4	714	53,4	1219	55,5	550	56,2	661	50,7	1211	53,2	524	57,4	644	51,9	1168	54,4
7	53	60,4	34	50,0	87	56,3	23	52,2	26	50,0	49	51,0	39	51,3	33	54,5	72	52,8
8	699	52,2	651	51,8	1350	52,0	786	51,7	700	48,4	1486	50,1	824	52,4	622	48,4	1446	50,7
9	591	56,5	286	55,6	877	56,2	575	54,1	294	42,2	869	50,1	643	51,9	295	50,5	938	51,5
10	574	54,2	654	51,5	1228	52,8	592	52,5	650	45,4	1242	48,8	673	51,3	705	47,2	1378	49,2
11	305	57,4	206	56,3	511	56,9	243	56,0	175	47,4	418	52,4	273	54,2	176	45,5	449	50,8
12	204	48,0	161	37,9	365	43,6	183	39,3	146	40,4	329	39,8	186	46,8	176	31,3	362	39,2
13	11	45,5	7	16,6	18	33,3	19	47,4	25	44,0	44	45,5	34	38,2	28	28,6	62	33,9
14	1	—	1	—	2	50,0	4	25,0	6	16,7	10	20,0	1	—	3	33,3	4	25,0
15	64	53,1	36	44,4	100	50,0	42	61,9	34	44,1	76	53,9	74	47,3	23	60,9	97	50,5
16	265	56,2	226	56,6	491	56,4	255	56,9	253	55,3	508	56,1	295	55,9	255	51,4	550	53,8
17	69	46,4	41	61,0	110	51,8	56	30,4	38	28,9	94	29,8	69	40,6	37	48,6	106	43,4
18	33	72,7	19	52,6	52	65,4	19	68,4	19	42,1	38	55,3	22	77,3	11	90,9	33	81,8
Ialt	4341	55,8	3928	51,5	8269	53,7	4368	53,2	3850	47,9	8218	50,7	4595	52,8	3826	48,1	8421	50,6

Tabel 3. Drægtighedsprocent i relation til sædceller pr. insemineringsdosis.
(Rate of conception in relation to number of spermatozoa inseminated).

Sædceller pr. insemineringsdosis, mill. (Spermatozoa inseminated, mill.)	Fortynding (Dilution).					
	1:15		1:31		1:47	
	Antal ins. (Numb. of ins.)	% dr. (% preg.)	Antal ins. (Numb. of ins.)	% dr. (% preg.)	Antal ins. (Numb. of ins.)	% dr. (% preg.)
1— 8	0	—	95	54,7	367	45,2
9— 16	133	45,1	681	52,3	2584	50,2
17— 25	242	57,4	1982	49,3	3539	51,7
26— 33	458	49,8	2625	51,7	1074	51,7
34— 41	806	54,3	1476	50,6	67	34,3
42— 50	959	53,0	521	53,0	25	56,0
51— 58	1125	54,0	58	31,0	0	—
59— 66	1368	52,6	17	52,9	0	—
67— 74	1109	55,3	12	58,3	0	—
75— 82	530	56,0	0	—	0	—
83— 91	600	53,3	0	—	0	—
92— 99	187	54,0	0	—	0	—
100—107	20	55,0	0	—	0	—
108—116	40	60,0	0	—	0	—
117—125	18	50,0	0	—	0	—
150—156	25	56,0	0	—	0	—
Ialt (Total)	7620	53,7	7467	50,9	7656	50,7
chi ²	12,23; P > 0,50		14,06; P > 0,05		13,94; P < 0,02	

I tabel 3 er insemineringsgraderne for de tre fortyndingsgrader grupperet efter antal sædceller pr. insemineringsdosis. Drægtighedsprocenterne for fortyndingen 1 : 47 varierer stærkere end man skulle vente, hvilket fremgår af, at P er mindre end 0,02, men det fremgår også af tallene, at den høje chi²-værdi kun i meget ringe grad er en følge af stigende drægtighedsprocent ved stigende antal sædceller pr. insemineringsdosis. Ved fortyndingen 1 : 31 er variationen i drægtighedsprocenterne på grænsen af at være statistisk sikker, men heller ikke her er der iøjnefaldende sammenhæng mellem drægtighedsprocent og antal sædceller pr. insemineringsdosis. For fortyndingen 1 : 15 er variationen i drægtighedsprocenterne meget små.

I flertallet af de anvendte sædprøver blev der tillige foretaget en bestemmelse af procent misdannede sædceller. I tabel 4 er drægtighedsprocenten opgjort i relation til sædens indhold af sådanne. Som det

fremgår af tabellen, er der ingen tydelig tendens til aftagende frugtbarhed ved stigende indhold af misdannede sædceller. Når χ^2 alligevel kommer op på 18,45, hvilket svarer til $P < 0,02$, skyldes det, at en enkelt tyr, nr. 3, der har haft en gennemsnitlig drægtighedsprocent på 44,5 og gennemsnitlig 21 pct. misdannede sædceller, har været uforholdsmæssig stærkt repræsenteret i gruppen med 28,1–32,0 pct. misdannede sædceller. Blev denne tyr udsendt, ville χ^2 for denne gruppe komme ned på ca. 1 i stedet for 6,57. De to andre tyre med lav frugtbarhed og højt indhold af misdannede sædceller, tyrene nr. 13 og 17, har kun været benyttet svagt, hvorfor deres bidrag til forhøjelse af χ^2 -værdierne bliver stærkt begrænset.

Tabel 4. Misdannede sædceller og frugtbarhed.
(Abnormal spermatozoa and fertility).

% misdannede % abnormalis	Antal ins. No. of ins.	% dr. % preg.	χ^2
0— 4,0	3643	51,4	0,21
4,1— 8,0	9322	52,6	2,32
8,1—12,0	5224	51,1	1,16
12,1—16,0	2036	52,8	0,91
16,1—20,0	913	48,8	3,17
20,1—24,0	778	51,2	0,13
24,1—28,0	377	51,5	0,02
28,1—32,0	285	44,2	6,57
32,1—36,0	161	59,6	3,96
Ialt (Total)	22739	51,8	18,45, $P < 0,02$

III. Sammenligning mellem fortynderne 1:15, 1:31 og 1:47.

I tiden fra 1. december 1954 til 31. marts 1955 blev forsøget med fortynderne 15, 31 og 47 gentaget efter samme plan som i det foregående forsøg. Resultaterne af gentagelsen, der bekræfter de tidligere indvundne resultater, er anført i tabel 5. Forsøget, der omfatter 18.730 insemineringer, gav 53,3, 51,8 og 50,4 drægtigheder pr. 100 insemineringer for fortynding på henholdsvis 15, 31 og 47 gange. Forskellen mellem fortynderne 15 og 31 blev $1,5 \pm 0,89$ procentenheder, der knapt når grænsen for statistisk sikkerhed. Forskellen mellem fortynderne 15 og 47 blev på $2,9 \pm 0,89$ procentenheder, en forskel, der er statistisk meget sikker.

Tabel 5. Drægtighedsprocent ved fortynding 115, 1:31 og 1:47 (1. dec. 1954—31. marts 1955).

(Conception rate at dilution 1:15, 1:31 and 1:47).

Tyr Bull No.	1:15						1:31						1:47					
	1. ins.		Senere ins. Later ins.		Ialt Total		1. ins.		Senere ins. Later ins.		Ialt Total		1. ins.		Senere ins. Later ins.		Ialt Total	
	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.	Ant. No.	% dr. % preg.
1	94	54,3	87	52,9	181	53,6	102	52,9	81	50,6	183	51,9	73	50,7	58	44,8	131	48,1
2	142	59,2	78	53,8	220	57,3	102	49,0	81	51,9	183	50,3	109	62,4	61	47,5	170	57,1
3	28	35,7	12	25,0	40	32,5	13	30,8	5	80,0	18	44,4	20	20,0	9	44,4	29	27,6
4	34	44,1	32	50,0	66	47,0	32	62,5	22	68,2	54	64,8	41	43,9	20	40,0	61	42,6
5	538	58,0	297	50,2	835	55,2	579	56,0	355	48,7	934	53,2	601	58,2	373	48,8	974	54,6
6	493	54,2	384	44,8	877	50,1	528	56,3	374	49,5	902	53,4	492	54,5	395	48,4	887	51,7
7	315	56,8	252	48,8	567	53,3	295	55,9	233	44,6	528	50,9	302	59,6	249	41,0	551	51,2
8	44	61,4	31	61,3	75	61,3	39	64,1	33	51,5	72	58,3	48	43,8	23	39,1	71	42,3
9	13	76,9	4	25,0	17	64,7	15	53,3	7	42,9	22	50,0	15	60,0	5	40,0	20	55,0
10	23	52,2	8	37,5	31	48,4	40	70,0	14	28,6	54	59,3	14	50,0	6	33,3	20	45,0
11	229	52,8	205	51,2	434	52,1	221	53,4	190	50,5	411	52,1	189	49,2	171	43,9	360	46,7
12	650	56,3	318	48,1	968	53,6	661	48,7	291	39,2	952	45,8	574	49,5	318	42,1	892	46,9
13	330	59,1	264	43,9	594	52,4	280	56,4	266	47,7	546	52,2	297	52,5	272	43,4	569	48,2
14	404	62,6	233	54,1	637	59,5	422	63,0	239	56,5	661	60,7	408	59,8	251	51,0	659	56,4
15	235	54,5	177	46,9	412	51,2	226	55,8	164	36,6	390	47,7	217	47,9	163	37,4	380	43,4
16	90	46,7	69	44,9	159	45,9	106	50,0	57	38,6	163	46,0	95	53,7	69	50,7	164	52,4
17	52	57,7	45	55,6	97	56,7	39	59,0	23	39,1	62	51,6	61	49,2	37	32,4	98	42,9
18	20	45,0	9	33,3	29	41,4	19	42,1	13	38,5	32	40,6	5	60,0	5	80,0	10	70,0
19	37	64,9	40	35,0	77	49,4	22	50,0	30	33,3	52	40,4	40	52,5	49	51,0	89	51,7
20	7	71,4	0	—	7	71,4	3	66,7	0	—	3	66,7	2	—	2	50,0	4	75,0
21	1	—	1	—	2	—	5	40,0	8	12,5	13	23,1	7	42,9	2	—	9	33,3
22	2	50,0	0	—	2	50,0	6	33,3	3	66,7	9	44,4	7	71,4	4	—	11	45,5
Ialt	3781	56,7	2546	48,4	6327	53,3	3775	54,7	2489	47,0	6244	51,8	3617	54,1	2542	45,2	6159	50,4

I dette forsøg blev der ligeledes foretaget en koncentrationsbestemmelse i de fleste af sædprøverne, og i tabel 6 er resultaterne for de tre fortyndingsgrader ligeledes grupperet efter antal sædceller pr. insemineringsdosis.

Tabel 6. Drægtighedsprocent i relation til sædceller pr. insemineringsdosis.
(Rate of conception in relation to number of spermatozoa inseminated).

Sædceller pr. insemineringsdosis, mill. (Spermatozoa inseminated, mill.)	Fortynding (Dilution).					
	1:15		1:31		1:47	
	Antal ins. (Numb. of ins.)	% dr. (% preg.)	Antal ins. (Numb. of ins.)	% dr. (% preg.)	Antal ins. (Numb. of ins.)	% dr. (% preg.)
1— 8	0	—	100	45,0	423	46,1
9— 16	57	47,4	1063	51,6	2789	50,4
17— 25	279	53,4	2029	50,4	1830	51,7
26— 33	693	51,7	1307	54,7	504	46,6
34— 41	999	52,8	898	52,8	39	46,2
42— 50	1057	55,5	218	51,8	6	50,0
51— 58	889	52,9	21	38,1	3	33,3
59— 66	541	54,0	0	—	0	—
67— 74	524	53,2	0	—	30	53,3
75— 82	410	52,4	0	—	0	—
83— 91	153	52,9	0	—	0	—
92— 99	128	57,8	0	—	0	—
100—107	18	55,5	0	—	0	—
108—116	30	43,3	0	—	0	—
Ialt (Total)	5778	53,3	5636	51,9	5624	50,2
chi ²	6,35; P > 0,80		9,76; P > 0,10		7,83; P > 0,30	

Heller ikke i dette forsøg er der sammenhæng mellem antal sædceller pr. insemineringsdosis og drægtighedsprocent. For alle tre fortyndinger ligger P indenfor værdier, der let kan fremkomme som følge af rent tilfældige variationer.

Ved gruppering af drægtighedsresultaterne efter sædens indhold af misdannede sædceller, er der heller ikke i dette forsøg fremkommet nogen sikker sammenhæng mellem indholdet af misdannede sædceller og drægtighedsprocent, således som det fremgår af tabel 7.

Tabel 7. Misdannede sædceller og frugtbarhed.
(Abnormal spermatozoa and fertility).

% misdannede % abnormalities	Antal ins. No. of ins.	% dr. % preg.	chi ²
0—4	3188	52,3	0,16
5—8	5797	52,7	1,23
9—12	4285	51,2	1,06
13—16	2079	51,9	0,00
17—20	896	52,9	0,33
21—24	390	51,3	0,06
25—28	174	46,6	2,02
29—32	146	46,6	1,68
33—36	136	47,8	0,94
37—40	101	52,5	0,01
41—44	36	47,2	0,32
Ialt	17228	51,9	7,81,

P > 0,50

Diskussion.

De tre omtalte fortyndingsforsøg viser god overensstemmelse, ligesom de falder i tråd med et tidligere fortyndingsforsøg med gelatineret sæd (9), hvor der var et mindre fald i befrugtningprocenten ved forøgelse af fortyndingsgraden fra 1 : 8 til 1 : 16. På baggrund af de relativt tilfredsstillende befrugtningprocenter, man har opnået ved indtil nogle få hundrede ganges fortynding i amerikanske forsøg, kan det måske overraske, at befrugtningprocenten i vore forsøg er faldet ved stigende fortynding på et i sammenligning med amerikanske forsøg lavt fortyndingsniveau. Forholdet kan dog forklares ved den antagelse, at faldet i befrugtningprocenten ved stigende fortynding følger en logaritmisk kurve, som antydet af Salisbury (4).

I gennemsnit af de tre forsøg er drægtighedsprocenten faldet 2,1 procentenheder ved en forøgelse af fortyndingsgraden fra 15 til 31, således som det fremgår af tabel 8.

I overensstemmelse hermed skulle faldet fra fortyndingen 1 : 15 til fortyndingen 1 : 47 komme på ca. 3 procentenheder, dersom faldet følger en logaritmisk kurve. Som det fremgår af tabel 9, er faldet på 2,98 procentenheder. Regner vi med en logaritmisk kurve, der har en hældning på 2,0 procentenheder ved en fordobling af fortyndingsgraden, skulle

Tabel 8. Drægtighedsprocent for samtlige insemineringer ved fortynding 1:15 og 1:31.

(Conception rate for all inseminations at dilution 1:15 and 1:31).

Forsøg (Experiment)	1:15			1:31			1:15 + 1:31
	Ant. ins. No. of ins.	Ialt dr. Preg.	% dr. % preg.	Ant. ins. No. of ins.	Ialt dr. Preg.	% dr. % preg.	
I	6253	3440	55,01	6308	3376	53,51	1,50 ± 0,89
II	8269	4443	53,73	8218	4167	50,70	3,03 ± 0,78
III	6327	3373	53,31	6244	3235	51,80	1,51 ± 0,89
Ialt (Total)	20849	11256	54,00	20770	10778	51,90	2,10 ± 0,49

Tabel 9. Drægtighedsprocent for samtlige insemineringer ved fortynding 1:15, 1:31 og 1:47.

(Conception rate for all inseminations at dilution 1:15, 1:31 and 1:47).

Forsøg (Experiment)	1:15			1:31			1:47			1:15 + 1:47
	Ant. ins. No. of ins.	Ialt dr. Preg.	% dr. % preg.	Ant. ins. No. of ins.	Ialt dr. Preg.	% dr. % preg.	Ant. ins. No. of ins.	Ialt dr. Preg.	% dr. % preg.	
II	8269	4443	53,73	8218	4167	50,70	8421	4265	50,64	3,09 ± 0,77
III	6327	3373	53,31	6244	3235	51,80	6159	3106	50,43	2,88 ± 0,89
Ialt (Total)	14596	7816	53,54	14462	7402	51,20	14580	7371	50,56	2,98 ± 0,58

vi forvente en drægtighedsprocent på 52 ved en fortynding på 240 gange, dersom man havde 60 pct. drægtige ved 15 ganges fortynding. Et sådant forhold mellem fortyndingsgrad og drægtighedsprocent kan givetvis ikke være til stede ved de meget lave og de meget høje fortyndingsgrader, men det kan muligvis være til stede indenfor et anseligt område herimellem, og dersom dette er tilfældet, bliver de relativt gode drægtighedsprocenter, amerikanerne har opnået ved meget høje fortyndinger, forståelige.

En kritisk afprøvning af teorien indenfor et område, der går op til mindst et par hundrede ganges fortynding, ville være af betydelig praktisk interesse, men gennemførelsen af sådanne forsøg i det omfang, der vil være nødvendigt for fremskaffelse af sikre resultater, er næppe muligt i øjeblikket.

Ved stigende fortynding af sæden vil man naturligvis få et faldende antal sædceller pr. insemineringsdosis, når insemineringsdosis holdes konstant. Flere forskere har i det aftagende antal sædceller pr. insemineringsdosis ved stigende fortynding set forklaringen på den faldende befrugtningsprocent. Den anden mulighed, at det var den stigende mængde af det for sædcellerne fremmede medium, som fortyndingsvædsken er, der eventuelt var årsagen til den faldende befrugtningsprocent, har man tilsyneladende ikke altid været tilstrækkelig opmærksom på. I vore forsøg har vi med de anvendte fortyndingsgrader ikke fået nogen antydning af, at et faldende antal sædceller pr. insemineringsdosis har haft noget fald i befrugtningsprocenten til følge, til trods for, at vi har et sikkert fald i befrugtningsprocenten ved stigende fortynding.

Dersom der var en væsentlig forskel på sædens tæthed fra de forskellige tyre, ville der sideløbende med grupperingen efter antal sædceller pr. insemineringsdosis ske en sortering af tyrene, hvorved tyre, der gennemgående producerede tynd sæd, ville blive uforholdsmæssigt stærkt repræsenteret i grupperne med det lave indhold af sædceller pr. insemineringsdosis, og tyre, der gennemgående producerede tæt sæd, ville blive uforholdsmæssigt stærkt repræsenteret i grupperne med det høje antal sædceller pr. insemineringsdosis. Dette kunne bevirke, at man fik et misvisende billede af relationen mellem antallet af sædceller pr. insemineringsdosis og drægtighedsprocenten, dersom de enkelte tyres drægtighedsprocent var afhængig af deres sædkoncentration. Til belysning af dette forhold er tyrene i tabellerne 10 og 11 opstillet efter drægtighedsprocenten for samtlige insemineringer.

Tabel 10. Drægtighedsprocent, sædkoncentration og procent misdannede sædceller. Forsøg II.
(Conception rate, semen density and per cent abnormal spermatozoa. Experiment II).

Tyr nr. Bull no.	Antal ins. No. of ins.	% dr. % preg.	mill. sædceller pr. mm ³ mill. sperm per mm ³	% misdannede % abnormal
14	16	25,0	0,68	11
13	124	37,9	0,99	24
12	1056	40,9	0,88	6
17	310	42,3	1,04	20
3	820	44,5	0,80	21
4	736	45,4	1,10	9
10	3848	50,2	1,42	10
8	4282	50,9	1,10	8
15	273	51,3	0,86	23
9	2684	52,6	1,18	9
11	1378	53,6	1,00	8
7	208	53,8	0,62	14
1	801	54,2	1,08	16
6	3598	54,3	1,39	10
5	1825	54,6	1,14	10
16	1549	55,4	1,17	4
2	1277	56,6	0,72	5
18	123	66,7	1,05	17
Ialt (Total)	24902	51,7		

Samtidig er anført sædens gennemsnitlige koncentration i de sædprøver, hvor en tælling er foretaget. Det fremgår af denne opstilling, at der ikke har været nogen tydelig sammenhæng mellem sædkoncentration og drægtighedsprocent, hvorfor den mulighed, at en uligelig repræsentation af de forskellige tyre i grupperne for sædceller pr. insemineringsdosis har påvirket resultaterne nævneværdigt, kan udelukkes. Dersom en påvirkning af resultaterne skulle have gjort sig gældende, ville man forøvrigt have ventet, at en eventuel stedfunden sortering af tyrene ville have bidraget til lave drægtighedsresultater ved faldende antal sædceller pr. insemineringsdosis. På baggrund af vore forsøg må vi derfor slutte, at det er den stigende mængde af fortyndingsvædske, der er den dominerende årsag til faldet i befrugtningensprocenten. Denne betragtning understøttes af det faktum, at sædens levedygtighed falder med stigende fortynding, således som vi har fundet ved afprøvning af en række endnu

ikke publicerede undersøgelser over forskellige fortyndingsvædsker. På denne baggrund skulle man tillige vente, at faldet i sædens befrugtningsevne ved stigende fortynding ville vokse med sædens alder. Dette fandt Willett (7) også, idet han observerede et fald i ikke-omløbere ved een dags opbevaring af sæden på 8,2 procentenheder ved 300 ganges fortynding, men kun 3,6 procentenheder ved 100 ganges fortynding. I vort forsøg I er faldet i befrugtningsevnen 1,6 procentenheder større for dag gammel sæd end for frisk sæd, men ved de to påfølgende forsøg kan der ikke spores stærkere fald i befrugtningsevnen for daggammel end for frisk sæd ved stigende fortynding, således som det fremgår af tabel 12.

Tabel 11. Drægtighedsprocent, sædkoncentration og procent misdannede sædceller. Forsøg III.

(Conception rate, semen density and per cent abnormal spermatozoa. Experiment III).

Tyr nr. Bull no.	Antal ins. No. of ins.	% dr. % preg.	mill. sædceller pr. mm ³ mill. sperm per mm ³	% misdannede % abnormal
21	24	33,3	1,10	28
3	87	33,3	1,06	22
18	71	45,1	1,30	23
22	22	45,5	1,04	23
15	1182	47,5	1,76	15
16	486	48,1	1,68	6
19	218	48,2	1,31	13
12	2812	48,8	1,20	11
17	257	50,2	1,03	10
11	1205	50,5	1,35	6
4	181	50,8	0,94	10
13	1709	50,9	1,28	8
1	495	51,5	1,68	7
6	2666	51,8	1,51	8
7	1646	51,8	1,65	9
10	105	53,3	1,22	13
8	218	54,1	1,40	15
5	2743	54,3	1,03	5
2	573	55,0	1,21	20
9	59	55,9	1,00	21
14	1957	58,9	1,22	11
20	14	71,4	1,07	14
Ialt (Total)	18730	51,7		

Tabel 12. Drægtighedsprocent med frisk og daggammel sæd.
(Conception rate with fresh and day-old semen).

Fortynding (Dilution)	1:15					1:31					1:47				
	Frisk sæd Fresh semen		Daggammel sæd Day-old semen			Frisk sæd Fresh semen		Daggammel sæd Day-old semen			Frisk sæd Fresh semen		Daggammel sæd Day-old semen		
Forsøg (Exp.)	Antal ins. No. of ins.	% dr. % preg.	Antal ins. No. of ins.	% dr. % preg.	Forskel Diff.	Antal ins. No. of ins.	% dr. % preg.	Antal ins. No. of ins.	% dr. % preg.	Forskel Diff.	Antal ins. No. of ins.	% dr. % preg.	Antal ins. No. of ins.	% dr. % preg.	Forskel Diff.
I	3217	55,4	3036	54,6	0,8	3225	54,7	3083	52,3	2,4	—	—	—	—	—
II	4339	56,5	3930	50,7	5,8	4240	52,8	3978	48,5	4,2	4322	52,7	4099	47,5	5,2
III	3316	54,4	3011	52,1	2,3	3215	52,3	3029	51,3	1,0	3145	50,9	3014	49,9	1,0
Ialt (Total)	10872	55,5	9977	52,3	3,2	10680	53,2	10090	50,5	2,7	7467	52,0	7113	49,1	2,9

Om det er reduktionen i sædcellernes antal eller forøgelsen af mængden af fortyndingsvædske, der er årsagen til faldet i befrugtningprocenten, er selvsagt af stor praktisk interesse. Var det faldet i sædcellernes antal, der var årsagen, blev den praktiske konsekvens heraf, at man burde afpasse fortyndingsgraden efter sædprøvernes tæthed, og dersom en sædprøve var fortyndet så stærkt, at sædcelleantallet ved normal insemineringsdosis var for ringe for opnåelse af normal drægtighedsprocent, skulle dette kunne afbødes ved forøgelse af insemineringsdosis. Er det derimod mængden af fortyndingsvædske, der er hovedårsagen til faldet i befrugtningprocenten ved stigende fortynding, vil det være mere hensigtsmæssigt at reducere insemineringsdosis i stedet for at gå op til de meget store fortyndinger.

Undersøgelser over sammenhængen mellem sædens indhold af misdannede sædceller og sædens befrugtningsevne har givet meget varierende resultater. I en række undersøgelser har man ikke kunnet fastslå nogen sikker forbindelse mellem sædens indhold af misdannede sædceller og sædens befrugtningsevne (10, 11, 12 og 13). I andre undersøgelser har man derimod fundet, at et højt indhold af misdannede sædceller var en indikator for lav befrugtningsevne (14 og 15). De afvigende resultater kan formentlig skyldes, at nedsat frugtbarhed hos en tyr ofte er ledsaget af et højt indhold af misdannede sædceller, hvorimod tyre med normal frugtbarhed kan vise varierende indhold af misdannede sædceller, uden at dette resulterer i korresponderende frugtbarhedsresultater, således som det også fremgår af vore undersøgelser.

Konklusion.

1. Sædens befrugtningsevne har været faldende ved stigende fortynding. Størrelsesordenen på faldet har andraget et par procentenheder ved fordobling af fortyndingsgraden.
2. Ved de anvendte fortyndingsgrader har antallet af sædceller pr. insemineringsdosis været uden betydning for befrugtningsevnen.
3. Befrugtningsevnen af den daggamle sæd har været lavere end for den friske. Forskellen i befrugtningsevnen af frisk og daggammel sæd har i disse forsøg ikke været større for den høje end for den lave fortyndingsgrad.

4. Enkelte tyre har haft et relativt højt indhold af misdannede sædceller og samtidig en relativ lav frugtbarhed. Ses der bort fra disse tyre, har der ikke kunnet påvises nogen sammenhæng mellem sædens indhold af misdannede sædceller og sædens befrugtningsevne.

English summary.

Three experiments on dilution rate has been conducted. In experiment I, the dilution rates 1 : 15 and 1 : 31, in experiment II and III the dilution rates of 1 : 15, 1 : 31 and 1 : 47 were compared. In all three experiments the diluent consisted of 2.6 % sodium citrate (dihydrate), 1 % glucose, 0.3 % sulfanilamide and 1000 units dihydrostreptomycin per ml. To the diluent was added approximately 20 % egg yolk. The insemination dose was approximately 0.75 ml.

Each ejaculate was split, diluted to the different dilution levels and distributed between the technicians in such a way, that no technician at any time had more than one dilution level at his disposal.

Semen was collected on Mondays, Wednesdays and Fridays. On collection days only fresh semen was used, and on the other week days only day-old semen. No inseminations were made on Sundays.

In experiment I the diagnosed conception rate for 1st and later inseminations was 55.0 with the dilution 1 : 15, and 53.5 for the dilution 1 : 31. The difference of 1.5 percentage units was slightly short of statistical significance (table 1 page 10).

In experiment II the pregnancy rate was 53.7, 50.7 and 50.6 for the dilution rates 1 : 15, 1 : 31 and 1 : 47, respectively. The difference between 1 : 15 and the two higher dilution rates was statistically significant (table 2 page 12).

In experiment III the corresponding pregnancy rates for the three dilution rates were 53.3, 51.8 and 50.4. The difference between the low and the two higher dilution rates was significant, too (table 5 page 15). In table 8 and 9 is given a summary of the obtained pregnancy rates in the three experiments.

The semen density of the majority of ejaculates used in experiment II and III was determined by counting in a hemocytometer. The number of spermatozoa per insemination dose was calculated and the data grouped according to number of spermatozoa inseminated. The results for experiment II is given in table 3 page 13. The data do not give any

indication of reduction in the conception rate with decreasing number of spermatozoa per dose.

Corresponding figures for experiment III is given in table 6 page 16. Neither in this experiment could a drop in conception rate with a decrease in the number of spermatozoa per dose be detected.

The data on relationship between conception rate and number of spermatozoa per dose may be affected by a disproportionate representation of bulls with varying fertility in the different groups. There was, however, no definite relationship between the fertility and the average semen density of the different bulls as it may be seen in table 10 and 11. Hence it seems very unlikely that an unintentional selection of the bulls have had any perceivable influence on the data.

The percentage abnormal spermatozoa was also determined in most of the ejaculates. In table 4 and 7 the conception results are grouped according to percentage of abnormals. In experiment II, table 4 a χ^2 -value larger than what one would expect as a result of chance variation was found. This is, however, mainly due to the fact, that bull no. 5, which had a high percentage of abnormals and a low conception rate, have had a high proportion of the inseminations in the group 28.1–32.0 % abnormals.

In experiment III, table 7 page 17 the variation in conception rates is not greater, than what one has to expect as a result of chance variation.

Low fertility may be accompanied of a high content of abnormals in the semen, but a high content of abnormals is not necessarily accompanied by low fertility. Hence the determination of abnormals in individual ejaculates as a mean of predicting the fertility of a ejaculate is of limited value.

Conclusions.

1. The fertility of the semen decreased with an increase in rate of dilution from 1 : 15 to 1 : 47. Within this interval the pregnancy percentage decreased approximately two percentage units with a doubling of the dilution rate.
2. The number of spermatozoa inseminated have had no effect on the fertility within the limit of dilution rates tested in these experiments.
3. The fertility of day-old semen was in these experiments two to three percentage units lower than that of fresh semen.

4. Bulls of low fertility may show a high proportion of abnormal spermatozoa in the semen. Aside from this, no relationship between percent abnormal and fertilizing capacity could be detected.

Litteratur.

1. *Salisbury, G. W., Beck, G. H., Cupps, P. T. and Elliott, I.* The effect of dilution rate on the livability and fertility of bull spermatozoa used for artificial insemination. *Jour. Dai. Sci.*, 26, 1943, p. 1057.
2. *Salisbury, G. W.* Further studies of the effect of dilution rate on the fertility of bull semen used for artificial insemination. *Jour. Dai. Sci.*, 28, 1945, p. 233.
3. *Salisbury, G. W.* Fertility of bull semen diluted at 1:100. *Jour. Dai. Sci.*, 29, 1946, p. 695.
4. *Salisbury, G. W. and Bratton, R. W.* Fertility level of bull semen diluted at 1:400. *Jour. Dai. Sci.*, 31, 1948, p. 817.
5. *Bratton, R. W., Foote, R. H. and Henderson, C. R.* The relationship between fertility and the number of spermatozoa inseminated. *Jour. Dai. Sci.*, 37, 1954, p. 1353.
6. *Willett, E. L. and Larson, G. L.* Fertility of bull semen as influenced by dilution level, antibiotics, spermatozoan numbers and the interaction of these factors. *Jour. Dai. Sci.*, 35, 1952, p. 899.
7. *Willett, E. L.* Decline in fertility of bull semen with increase in storage time as influenced by dilution rate. *Jour. Dai. Sci.*, 36, 1953, p. 1182.
8. *Branton, C., Kellgren, H. C. and Patrick, T. E.* The importance of numbers of spermatozoa in relation to semen quality and fertility of dairy bulls. *Jour. Dai. Sci.*, 36, 1953, p. 1301.
9. *Rottensten, Knud.* I. Sammenlignende forsøg med fortynding af sæden 1:8 og 1:16. 261. beretning fra forsøgslaboratoriet, 1952.
10. *Cummings, J. N.* Testing fertility in bulls. *Minn. Tech. Bull.*, no. 212, 1954.
11. *Johnston, J. E., Branton, C. and Hathorn, F.* Semen evaluation techniques and fertility of dairy bulls (abstract). *Jour. An. Sci.*, 11, 1952, p. 740.
12. *Bishop, M. V., Campbell, R. C., Hancock, J. L. and Walton, A.* Semen characteristics and fertility in the bull. *Jour. Agric. Sci.*, 44, 1954, p. 227.
13. *Laing, J. A.* Observations on the characteristics of the semen in relation to fertility in the bull. *Jour. Agric. Sci.*, 35, 1945, p. 1.
14. *Rollinson, D. H. L.* Studies on the abnormal spermatozoa of bull semen. *Brit. Vet. Jour.*, 107, 1951, p. 203, 258 and 451.
15. *Lagerlöf, N.* Morphologische Untersuchungen über Veränderung im Sperma-bild und in den Hoden bei Bullen mit vermindeter oder aufgehobener Fertilität. *Acta. Pathol. et Microbiol. Scand. Suppl.*, 19, 1934, p. 254.