



Kunstmatige inseminatie bij runderen

<https://hdl.handle.net/1874/325106>

A. qu. 192, 1938.

KUNSTMATIGE
INSEMINATIE
BIJ RUNDEREN

J. SIEBENGA

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT

KUNSTMATIGE INSEMINATIE
BIJ RUNDEREN

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK UTRECHT



3593 5588

Diss. Utrecht 1938

KUNSTMATIGE INSEMINATIE BIJ RUNDEREN

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE VEEARTSENIJKUNDE
AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP
GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS **DR.**
TH. M. VAN LEEUWEN, HOOGLEERAAR IN DE
FACULTEIT DER GENEESKUNDE, VOLGENS
BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER UNIVERSITEIT
TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT
DER VEEARTSENIJKUNDE TE VERDEDIGEN OP
WOENSDAG 21 DECEMBER 1938,
DES NAMIDDAGS TE 4 UUR DOOR

JAN SIEBENGA

DIERENARTS TE OLDEBERKOOP
GEBOREN TE OLDEBOORN

MEPPEL
N.V. DE AGRARISCHE PERS
1938

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

Aan mijn Vrouw.

Aan mijn Ouders.

Bij het voltooiën van dit proefschrift is het mij een aangename taak, te dezer plaatse mijn oprechten dank te brengen aan allen, door wien ik in staat ben gesteld dit einddoel te bereiken.

Voor al U, Hooggeleerde VAN DER KAAY, Hooggeachte Promotor, ben ik bijzonderen dank verschuldigd voor de belangstelling, die U in mijn werk hebt getoond en voor de wijze, waarop U mij bij de bewerking met raad en daad hebt terzijde gestaan.

Ook U, Hooggeleerde VAN DER PLANK, breng ik mijn welgemeenden dank voor de bereidwilligheid, waarmee gij mij hebt terzijde gestaan, wanneer het vraagstukken betrof op zoötechnisch gebied.

U, Zeergeleerde HAGEDOORN, ben ik zeer dankbaar voor den invloed, dien gij hebt uitgeoefend, waardoor het mij mogelijk was, dit vraagstuk ter hand te nemen en uit te werken.

Gij Veehouders in mijn omgeving ben ik zeer erkentelijk voor het vertrouwen, dat gij in mij hebt gesteld, waardoor ik de experimenten in zoo'n groote getale kon nemen.

Ten slotte dank aan allen, die mij op eenigerlei wijze behulpzaam waren bij de totstandkoming van dit werk.

INHOUD.

Hoofdst.	Blz.
I. INLEIDING	13
II. GESCHIEDENIS DER KUNSTMATIGE INSEMINATIE	15
III. LITERATUUR	20
A. <i>Sperma</i>	20
1. Physiologie van het sperma	20
a. Algemeene regels voor het onderzoek van sperma	20
b. Hoeveelheid	21
c. Aantal spermieën per volume eenheid	21
d. Kleur	22
e. Waterstofionenconcentratie (pH)	23
f. Morphologie van de spermatozoid	23
g. Bewegelijkheid	25
h. Het vermogen tot bevruchten der spermatozoiden	27
2. Pathologie van het sperma	28
a. Hoeveelheid	28
b. Aantal spermieën per volume eenheid	28
c. Verschillende typen pathologische spermatozoiden	30
d. Onrijpe spermatozoiden	30
e. Cellige elementen	31
f. Afwijkingen in kleur en in beweging	31
3. Sperma in het vrouwelijk lichaam	31
4. Sperma in vitro	32
B. <i>Techniek der kunstmatige inseminatie en het instrumentarium</i>	33
1. Verzamelen van het sperma	34
a. Operatieve methode	34
b. Vaginale methode	35
1e. Directe vaginale methode	35
2e. Spons methode	35
3e. Verzamelaar methode	35
4e. Condoom methode	36
c. Rectale methode	36
d. Methode met de kunstmatige vagina	36

e. Electricische prikkeling	38
2. Onderzoek van het sperma	40
3. Bewaren van het sperma	40
4. Verdunning van het sperma	42
5. Injectie van het sperma	45
IV. EIGEN ONDERZOEK	47
1. Materiaal	47
2. Werkmethode	48
a. Verzamelen van het sperma	48
b. Sperma onderzoek	50
c. Inseminatie	53
V. KUNSTMATIGE INSEMINATIE BIJ NORMALE RUNDEREN	55
Literatuur	55
Eigen onderzoek	56
A. <i>Kunstmatige inseminatie bij koeien in den oestrus verkeerende, waarbij nog geen coitus in het betreffende seizoen heeft plaats gehad</i>	56
1. Kunstmatige inseminatie lege artis uitge- voerd met onverdund goed sperma	56
2. Kunstmatige inseminatie lege artis uitge- voerd met verdund goed sperma	59
3. Kunstmatige inseminatie, waarbij een ge- deelte van het sperma terugvloeit in de vagina	61
4. Kunstmatige inseminatie, waarbij het sperma geheel of gedeeltelijk in den uterus wordt gedeponerd	62
5. Kunstmatige inseminatie, waarbij alle sperma in de vagina wordt gedeponerd	64
B. <i>Kunstmatige inseminatie bij koeien, die klinisch niet meer bronstig zijn</i>	66
C. <i>Kunstmatige inseminatie bij koeien in den oestrus verkeerende, met sperma van verschil- lende hoedanigheid</i>	70

1. Sperma met goede wolkenvorming	71
2. Sperma met weinig wolkenvorming	73
3. Sperma met iets wolkenvorming	74
4. Sperma zonder wolkenvorming	76
D. <i>Samenvatting en bespreking der onder A., B. en C. verkregen resultaten</i>	77
VI. KUNSTMATIGE INSEMINATIE BIJ ONVRUCHTBAARHEID EN VAN ONVRUCHTBAARHEID VERDACHTE RUNDEREN	
Literatuur	82
Eigen onderzoek	84
A. <i>Kunstmatige inseminaties op bedrijven met endemische catarrhale endometritis</i>	84
1. Kunstmatige inseminatie bij dieren, die reeds één of meermalen door een geïnfecteerden stier zijn gedekt	86
2. Kunstmatige inseminatie bij dieren, behorende bij bedrijven, waar de catarrhale endometritis endemisch voorkomt en waarbij de normale coitus niet heeft plaats gehad, met sperma van een niet geïnfecteerden stier	89
3. Kunstmatige inseminatie bij dieren, behorende bij bedrijven, waar catarrhale endometritis endemisch voorkomt, met sperma van een geïnfecteerden stier	91
B. <i>Kunstmatige inseminatie bij afwijkingen aan cervix en vagina</i>	97
1. Cervix afwijkingen	97
2. Vagina afwijkingen	100
C. <i>Kunstmatige inseminatie bij dieren, die één of meermalen waren gestierd en waarbij geen klinische afwijkingen werden waargenomen</i>	102
D. <i>Bijzondere gevallen</i>	105

E.	<i>Samenvatting en bespreking der onder A., B., C. en D. verkregen resultaten</i>	106
VII.	KUNSTMATIGE INSEMINATIE NA VERZENDING VAN HET SPERMA OVER GROOTEN AFSTAND	110
VIII.	DE BETEEKENIS VAN DE KUNSTMATIGE BEVRUCHTING VOOR ONS LAND	117
IX.	SLOTCONCLUSIES	122
	Literatuurlijst	124

HOOFDSTUK I.

INLEIDING.

Onder kunstmatige inseminatie verstaat men het inbrengen van sperma met behulp van het daartoe aangegeven instrumentarium in het vrouwelijk geslachtsapparaat. Veelal spreekt men hierbij van kunstmatige bevruchting.

De uitdrukking „kunstmatige bevruchting” is niet juist, want bevruchten doet men niet.

Bij de kunstmatige bevruchting neemt men de taak van het manlijk dier gedeeltelijk over door het deponeren van het sperma in de vagina of in de cervix. De bevruchting zelf, d.w.z. het indringen van de spermatozoid in de eicel vindt zoowel na de „kunstmatige bevruchting” als na de coitus op dezelfde wijze plaats.

Het is dan ook volkomen juist, dat door de Duitschers wordt gesproken van „künstliche Besamung”.

Wanneer ik in de volgende bladzijden spreek van kunstmatige bevruchting, ben ik er mij van bewust, dat dit niet juist weergeeft, hetgeen plaats vindt, maar voor het woord inseminatie is mij geen goed hollandsch woord bekend en de uitdrukking kunstmatige bevruchting heeft in het spraakgebruik burgerrecht gekregen.

Volgens de literatuur biedt de kunstmatige methode het voordeel, dat de zaadcellen met zorg in de cervix gedeponereerd kunnen worden, zoodat aan een relatief grooter aantal de gelegenheid geboden wordt den weg naar den uterus te nemen, waardoor de kans op bevruchting toeneemt. Zelfs bij dieren, die herhaalde malen op normale wijze tevergeefs zijn

gedekt, zou de „inseminatie” in vele gevallen tot succes voeren. Een tweede voordeel zou zijn, dat van één ejaculaat meer bevruchtingen mogelijk zijn, zoodat meer economisch gewerkt kan worden met sperma van hoogwaardige dieren, van welker krachten in tijden van drukke dekperioden te veel moet worden gevegd. Een derde mogelijkheid ligt in de bevruchting over groote afstanden, zoodat net reizen met dieren tijdens de bronst achterwege gelaten kan worden. Tenslotte wordt gewezen op het vermijden van infecties van het geslachtsapparaat, waarvan de besmetting door de vaderdieren wordt overgebracht.

Op een vergadering van veeartsen op 27 Juli 1923 bespreekt V e e n b a a s het steriliteitsvraagstuk, waarbij hij eindigt met de ontboezeming, dat er nog veel water door den Rijn zal moeten loopen, voor wij in staat zijn door medicamenteuze behandeling de periode, waarbinnen de steriliteit van nature geneest, belangrijk te kunnen inkorten. Dit laatste toch, zoo zegt spreker, moet ons einddoel zijn, als wij het optreden niet kunnen verhinderen.

Door de dichtheid van den veestapel per oppervlakte-eenheid wordt de uitbreiding van de endemische steriliteit in hooge mate bevorderd. Een meer systematische bestrijding van die steriliteit is noodig, daar deze plaag jaarlijks voor millioenen guldens schade berokkent aan de veehouderij.

Dit alles heeft mij er toe gebracht, na te gaan in hoeverre de kunstmatige bevruchting van belang is voor de bestrijding, eventueel voorkomen, der steriliteit onder het rundvee. Hiertoe is door mij kunstmatige bevruchting verricht, zoowel bij volkomen normale koeien, als bij steriele dieren. Steeds werd getracht de oorzaak der steriliteit vast te stellen.

Volledigheidshalve geef ik vooraf een overzicht over de hedendaagsche kennis omtrent de gedragingen van het sperma, omdat voor een goede toepassing der kunstmatige inseminatie deze kennis onontbeerlijk is.

HOOFDSTUK II.

GESCHIEDENIS DER KUNSTMATIGE INSEMINATIE.

Het probleem der kunstmatige inseminatie is niet nieuw. Vroeger kon ze slechts onder zeer bijzondere voorzorgsmaatregelen worden toegepast. De techniek heeft zich evenwel dermate gewijzigd, dat zij voor practische toepassing geschikt is geworden.

De geschiedenis zegt, dat het omstreeks 1400 een Arabisch opperhoofd gelukt is om sperma van een waardevollen hengst, toebehoorende aan een vijandigen stam, met behulp van een prop katoen zich toe te eigenen en hiermede een hengstige merrie van zijn stam bevrucht te krijgen, door dit met zaad doordrenkte katoen in de scheede van die merrie te deponeren.

Spallanzani (52), een Italiaansch priester en later professor in de physiologie aan de universiteit te Pavia, paste met succes de inseminatie bij een hond toe in 1780. Hij bracht sperma in de vagina van een teef, welke in den oestrus verkeerde en nam na eenigen tijd waar, dat zich vruchten in den uterus ontwikkelden, die na den normalen graviditeitsduur ter wereld werden gebracht. De ontwikkeling der vruchten vertoonde geen afwijkingen. Hieruit bleek dus, dat enkel het inbrengen van het mannelijk zaad in de scheede van het vrouwelijk dier voldoende was om bevruchting, ontwikkeling en het ter wereld brengen van de nakomelingen te bewerkstelligen. De paring was daarvoor niet noodig. Om religieuse redenen was het hem niet mogelijk dit proces bij den mensch toe te passen.

Hunter heeft daartoe wel de gelegenheid gehad; hij bracht omstreeks 1800 het zaad van een impotent echtgenoot in de vagina van de vrouw. Om verschillende redenen is de kunstmatige bevruchting bij den mensch eenige jaren op den achtergrond geraakt, totdat in 1866 de Amerikaansche gynaecoloog Sims (51) dit probleem weer opvatte ter voorkoming van kinderlooze huwelijken. Haeppe (15) een Engelsche bioloog (1897) wees op de experimenten van een zekeren Millais bij honden.

Het volgend jaar (1898) kwam Haeppe (16) met een aanbeveling, de kunstmatige bevruchting bij merries te bezigen in gevallen van onvruchtbaarheid wegens ontstekingsprocessen van de cervix, abnormale vaginaal secretie of wegens postcoitale ejaculatie. Hijzelf had van de 28 merries er 26 drachtig gekregen. Zoowel in landbouwkundige als in veterinaire geschriften werd in de komende jaren in Amerika en Europa de kunstmatige bevruchting aanbevolen ter bestrijding van de steriliteit. De toepassing geschiedde in meerdere gevallen met succes.

De meeste geschriften komen van Russische zijde, waar Prof. Elie Ivanov (19) zeer veel baanbrekend werk heeft verricht en de pionier van de kunstmatige bevruchtingsmethode genoemd mag worden. Het gelukte hem in 1899 met spermatozoiden, gesuspenseerd in een kunstmatig milieu, zonder secreet van de accessoire geslachtsorganen, ingebracht in de vagina van vrouwelijke dieren, normale gezonde jongen te verwekken. Het zaad hiervoor verkreeg hij uit testis, epididymus en vas deferens.

De Russische regeering stelde Ivanov in de gelegenheid dit onderwerp verder uit te werken, als gevolg waarvan in 1907 een belangrijk rapport verscheen: „De la fécondation artificielle chez les mammifères”.

Na voorafgaande experimenten over verzameling en behandeling van sperma, werd een serie inseminaties bij paarden ondernomen met zeer bevredigend resultaat. Met één ejaculaat werden 19 paarden behandeld, waarvan 13 een veulen wierpen. Van een andere hoeveelheid werden de 13 behandelde merries allen drachtig. In de komende jaren

ging men er mee door en er staat vermeld, dat van 1899—1910, 579 merries zijn bevrucht.

Daarnaast werden ook koeien en schapen behandeld met eenig resultaat.

In 1909 richtte de regeering een laboratorium op met het doel veterinairen te onderrichten in de techniek der kunstmatige bevruchting en in 10 jaar tijds zijn daarvoor ongeveer 400 personen opgeleid. De eerste meer uitgebreide proefnemingen vonden plaats in het dorp Dolgoe, in de stoeterij Dubrowska en in de particuliere stoeterij van Graaf Falz-Fein in Askania-Nova.

In 1922 geeft I v a n o v het volgende verslag over zijn werkzaamheden:

Jaargang	Aantal hengsten	Aantal merries geïnsemineerd	Percentage bevruchting
1909	3	57	40
1910	8	288	40,3
1911	31	2285	35,5
1912	41	3397	41,4
1913	17	777	42,3

Dat het bevruchtingspercentage laag was, berustte op verschillende fouten, die gemaakt waren. Waar voorzorgen genomen waren, dat alleen gezonde merries in volle bronst in behandeling kwamen, dat het zaad normaal was, de inseminatie zich niet beperkte tot een enkele injectie, maar met tusschenpoozen gedurende de bronstperiode werd herhaald, kwam men tot een bevruchtingspercentage van bijna 90. De nakomelingen verschilden in geen enkel opzicht van de op natuurlijke wijze verwekte dieren. Tijdens den wereldoorlog is er weinig verder gewerkt en publicaties over die periode ontbreken.

In 1919 stichtte de Sovjet regeering te Moskou een centraal proeffokstation, waarvan Prof. I v a n o v directeur werd. Tengevolge van gebrek aan uitrusting en personeel begon men pas in 1923, in welk jaar 1500 paarden werden behandeld, welk aantal geleidelijk groeide tot 70.000 in 1928.

De kunstmatige inseminatie bleek een groote waarde te hebben voor het herstel van de verwaarloosde paardenfokkerij in Rusland. Een klein aantal waardevolle hengsten was in staat een zeer groot aantal vrouwelijke dieren te bevruchten. Vooral in de streken met venerische ziekten (Dourine) bleek men hierin een hulpmiddel te hebben ter voorkoming. Bij het verzamelen van het zaad ging men uit van gezonde hengsten en merries, zoodat de infectie-mogelijkheden en verspreiding ervan, zoowel bij hengsten als merries werden vermeden.

Behalve de practische uitvoering, is ook de wetenschappelijke zijde van het vraagstuk, vooral de physiologie van het sperma, door I v a n o v bestudeerd. Naast hem stond als een der voornaamste medewerkers N e u m a n n, die vooral het verzamelen, het verdunnen en conserveeren van het sperma bestudeerde. Bovendien dienen namen als K u s n e z o w a, M i l o w a n o v, N a g a e w, S k a t k i n (27) te worden genoemd.

Volgens latere publicaties zijn in 1932 1.200.000 dieren behandeld, waaronder 300.000 runderen, waarvan 71 % bevrucht werden en normale kalveren ter wereld brachten.

Dat enkele jaren noodig waren, eer de Russische methoden in de West-Europeesche landen ingang vonden, kwam vooral, doordat de nieuwere publicaties in het Russisch verschenen.

Van Prof. Götze te Hannover is het een verdienste geweest, dat hij zich persoonlijk aan het Moskousche instituut op de hoogte heeft gesteld en in de Deutsche Tierärztliche Wochenschrift in 1933 (12) daarover een publicatie heeft gegeven. Mede als gevolg hiervan zijn door anderen, n.l. K ü s t te Gieszen en R i c h t e r te Leipzig, verschillende onderdeelen van dit probleem bestudeerd (1935—heden). In dit verband zijn ook te noemen T e i c h (54), S c h ö t t l e (49), L u n d (33), P o l l m a c h e r (39), F r e i l i n g (10), e. a.

De physiologie, morphologie en pathologie van het sperma zijn vooral bestudeerd door W e s t e r (60), D ä t w y l e r (5), R o e m m e l e (45) en in de laatste jaren vooral door N i l l s L a g e r l ö f (31) te Stockholm.

De Engelsche onderzoekers, H a m m o n d met zijn medewerkers W a l t o n en E d w a r d s, geven vooral nieuwere inzichten over de biologie van het zaad. W a l t o n heeft met zijn werk „The technique of Artificial Insemination” een Engelsche uitgave verzorgd van het Russische werk: „De kunstmatige bevruchting bij runderen en schapen”, door N e u m a n n, K u s n e z o w a, M i l o w a n o v, N a g a e w en S k a t k i n.

HOOFDSTUK III.

LITERATUUR.

A. Sperma.

1. Physiologie van het sperma.

Onder sperma wordt verstaan een mengsel van spermatozoiden en het vocht van de accessoire geslachtsorganen. De biologische en physiologische eigenschappen hebben reeds langen tijd als onderwerp van wetenschappelijke beschouwingen gediend. Deze wetenschap is de laatste jaren vooral dienstbaar gemaakt aan de kunstmatige bevruchting. Alle onderzoekers zijn het er over eens, dat het van het allergrootste belang is vast te stellen, voordat men kunstmatig gaat bevruchten, of het sperma in staat is te bevruchten. Aan elke kunstmatige bevruchting moet dus een onderzoek van het sperma vooraf gaan.

a. *Algemeene regels voor het onderzoek van sperma.*

Door de verschillende onderzoekers wordt er op gewezen, dat men in de allereerste plaats moet beginnen met het klinisch onderzoek van het genitaalapparaat van den stier; daarna wordt vastgesteld of het geslachtsapparaat normaal sperma kan leveren; een abnormaal geslachtsapparaat doet dit in de meeste gevallen niet. Bij het klinisch onderzoek van

het geslachtsapparaat wordt algemeen begonnen met een nauwkeurige inspectie en palpatie van de testes en epididymi. De grootte en consistentie hiervan acht men van groot belang. Een onderzoek van penis en praeputium mag niet vergeten worden. Tenslotte acht men het van groot belang door rectaal onderzoek de bevindingen te controleeren aan de zaadampullen, de zaadblaasjes en de prostaat. Vervolgens wordt door allen het sperma aan een nauwkeurig macroscopisch en microscopisch onderzoek onderworpen. Vrijwel zonder uitzondering is men het er over eens, dat het sperma daartoe zoodanig moet worden opgevangen, dat het niet in aanraking is geweest met het vrouwelijk lichaam. Men controleert nu van het sperma de hoeveelheid, het aantal spermïën per volume eenheid, de kleur, de waterstofionenconcentratie (pH), de morphologie der spermatozoid, de beweeglijkheid der spermatozoiden.

Het wordt van groot belang geacht, het sperma op te vangen en te bewaren in goed gereinigde en volkomen droge glazen vaten. Op dit laatste wordt nadrukkelijk gewezen, omdat anders de beweeglijkheid der spermatozoiden niet beoordeeld kan worden.

b. *Hoeveelheid.*

De hoeveelheid kan gemeten worden in gegraduateerde maatglasjes van kleine doorsnee en voor runderen met een capaciteit van 10—15 c.c. Verschillende onderzoekers wijzen er op, dat een jonge stier in den regel minder zaad levert, dan een oudere, terwijl het volume van denzelfden stier binnen een klein tijdsbestek sterk kan varieeren. De Russen melden een gemiddelde van 4,7 c.M³. per ejaculaat, Lund (33) geeft aan 1—10, Mulder (37) 2½—6, Wester (60) gaat zelfs tot 20 c.M³., Lagerlöf (31) van 1—7 c.M³.

c. *Aantal spermïën per volume eenheid.*

Het aantal spermïën wordt meestal bepaald met de haemocytometer van Bürker. Het sperma wordt 100—200 maal verdund met b.v. 3 % zoutsolutie, waaraan enkele

druppels methyleenblauw worden toegevoegd. Hierdoor worden de spermieën gedood en licht blauw gekleurd, hetgeen het tellen vergemakkelijkt. Men telt 80 hokjes, vermenigvuldigt het aantal met 5 (Bürkers haemocytometer bevat 400 kwadraatjes), dit product weer met 10 (de vloeistoflaag is 0,1 m.M. dik), neemt daarvan weer het 100- of 200-voud, al naar gelang de verdunningsgraad, welk eindgetal het aantal spermieën per m.M³. aangeeft. Voor een goede controle is het gewenscht, driemaal over te tellen.

Er zijn verschillende gegevens over het aantal spermieën, hoewel ze elkaar genoegzaam dekken. Lagerlöf (31) geeft voor bevruchtend zaad 200.000—1.200.000 per m.M³., met een maximale grens van 2 miljoen. Beneden 200.000 wordt het bevruchtungsvermogen twijfelachtig, terwijl hij 60.000 als uiterste limiet stelt, waar beneden bevruchting niet meer mogelijk is. Teich (54) meldt een gemiddelde van 790.000 per m.M³. Hoewel Lagerlöf aangeeft, dat het aantal bij den hengst bij frequent gebruik vrij snel afneemt, blijkt uit het onderzoek van Teich, dat dit bij stieren minder het geval is. Hij liet 54 stieren viermaal achter elkaar springen met tusschenruimten van een half uur en kon steeds sperma van goede kwaliteit verzamelen. Als gemiddelden verkreeg hij bij den:

eersten sprong	790.000 per m.M ³ .
tweeden sprong	590.000 per m.M ³ .
derden sprong	430.000 per m.M ³ .
vierden sprong	490.000 per m.M ³ .

Hans Weber (59) daarentegen waarschuwt tegen overmatig gebruik en acht 24 uur rust noodig, voordat een nieuw ejaculaat weer in volle rijpheid beschikbaar is.

d. *Kleur.*

Deze wordt aangegeven van melkwit tot roomgeel (Lagerlöf, Lund, Roemmele e. a.).

De tint is intensiever naar gelang meer spermieën per c.c. aanwezig zijn. Bevat het ejaculaat weinig cellen, dan wordt de vloeistof waterig, om tenslotte bij afwezigheid van spermieën

geheel helder te worden. Bij aanwezigheid van bloed is de tint iets roodachtig, terwijl een groenachtige kleur aan een overmaat van leucocyten zou te wijten zijn.

e. *Waterstofionenconcentratie (pH).*

Voor de bepaling van de H-ionenconcentratie maakt Mulder gebruik van de meting met de glaselectrode. Andere onderzoekers (Walton) (58) voegen na centrifugeeren phenolphthaleïne toe, waarna de kleur vergeleken wordt met indicatoren, die speciaal daarvoor zijn gefabriceerd.

Mulder vond een pH van 6,51—8,67, terwijl Freiling (10) 5,71—6,45 noemt. Het maakt evenwel verschil, hoelang het ejaculaat op het moment van onderzoek het lichaam heeft verlaten. Mulder onderzocht binnen 15 minuten. Küst (30) geeft aan, dat de pH van normaal sperma van gezonde stieren onder het neutrale punt ligt, dus in het zure gebied en adviseert voor de kunstmatige bevruchting sperma te nemen met een pH tusschen 6,3 en 7,0. Volgens hem bestaat er een tegengestelde verhouding tusschen de pH eenerzijds en de spermienconcentratie en vitaliteit anderzijds.

f. *Morphologie van de spermatozoid.*

Over de morphologie van de stierenspermien zijn verschillende publicaties verschenen. o.a. Miescher (34), Retzius (42), Schmaltz (48), Wester (60), Williams en Savage (63).

De structuur is geheel verschillend van een gewone cel, hetgeen in verband staat met de beweeglijkheid. De spermatozoid bestaat uit drie gedeelten, nl. kop, verbindingsstuk of lichaam en staart.

De kop heeft een normalen vorm met de grootste breedte vaak iets voor het midden en een grootte van 9—10 micron. De kop vertegenwoordigt de kern van de cel en is met een dun laagje protoplasma overdekt, de kapsel of acrosoom. Het voorste deel van de kapsel is eenigszins

steviger dan het overige en wordt perforatorium genoemd; het speelt een rol bij het binnendringen van de spermatozoid in het ei.

Het deel tusschen kop en staart bestaat uit den hals en het verbindingsstuk of lichaam. De hals is kort en bevat onmiddellijk achter den kop den voorsten eindknoop, afstammend van het voorste centrosoom. Daarachter zit een doorschijnende massa en daarop volgt de achterste eindknoop, waarop de staartvezel zit. De hals, evenals het verbindingsstuk, is beweeglijk, gelijk een gewricht, zoodat de kop alle bewegingen kan verrichten.

Het verbindingsstuk is helder en ongeveer even lang als de kop, doch veel smaller. Verschillende deelen van het protoplasma zijn er samengevoegd. In het midden is een asvormig filament, vezelachtig van structuur, dat doorgaat in den staart. Daaromheen is een dunne scheede (involucrum), die zich in den staart voortzet. Rondom het asvormig filament en het involucrum samen, is een spiraaldraad, die begint bij den achtersten eindknoop en op het einde van het lichaam in een gesloten ring (annulus) uitloopt.

Van den staart bestaat het voorste deel, ongeveer 40—60 micron lang, uit het asfilament met het involucrum, vermallend van voren naar achter, en een achterste deel, uitsluitend uit asfilament met een lengte van ongeveer 10 micron. Het asfilament heeft een fibrillaire structuur en wordt eveneens van voren naar achter dunner. De staart is rechtlijnig of licht gebogen. De heele spermatozoid heeft een lengte van 75—80 micron.

Voor het morphologisch onderzoek staan ons verschillende kleurmethode ten dienste, waarmee vooral Vaino Toivola (55) te Leipzig zich heeft bezig gehouden. Ten behoeve daarvan maakt men een dun uitstrijkje, droogt het in de lucht, fixeert het in de vlam, past de kleurmethode toe, spoelt het af in water en laat het drogen. Men wijst er speciaal op, de kleurstof zooveel mogelijk te verwijderen, opdat de gekleurde cellen beter te zien zullen zijn. Is het sperma niet met de kunstmatige vagina verzameld, dan dient het ver-

mengde slijm vooraf opgelost te worden, door het uitstrijkje te wasschen met 1 % chloramine (1—2 min.).

Bij vrijwel alle kleurmethodeën blijkt, dat het voorste deel van de spermatozoid moeilijker kleurstof tot zich neemt, dan het achterste. Dit laatste is dan ook intensiever gekleurd. De scheiding tusschen de twee deelen markeert zich in den regel als een donkere zône.

Wester kleurt met Tusche; een druppeltje sperma, vermengd met een druppeltje Tuschevloeistof, droogt snel op en men ziet heldere spermiën op een donkeren achtergrond.

Zeiger gebruikt Bresslau's opalblauw. Na twee minuten worden de spermiën donkerpaars. Dit is een speciaal-kleuring voor onrijp zaad, waarbij het protoplasmalichaampje intensief donker getint wordt.

Kraus en Meves nemen gentiaanviolet (5 min.).

Hayen-Riecke-Wiederhaken gebruiken haematoxyline (5 min.). Dit geeft een blauwe kleur, vooral het verbindingsstuk wordt intensief blauw.

Riecke-Meves kleuren met safranine.

Möller-Thom bezigen jodium tinctuur (3—25 sec.). De spermiën zijn eerst zwart, doch helderen later op.

Lagerlöf beschrijft een contrastkleuring met carbol-fuchsine en eosine (2—5 min.). De koppen zijn rood-lila, de staart is donkerrood.

g. *Beweeglijkheid.*

Alle schrijvers zijn het er over eens, dat voor de bevruchting de beweeglijkheid van de spermatozoiden een eerste vereischte is. Men controleert de beweeglijkheid door een kleine hoeveelheid sperma op een voorwerpglasje te nemen en met een dekglasje te bedekken en dan microscopisch te onderzoeken.

Er zijn vier types van beweging te onderscheiden:

- 1e. Een vooruitgaande, waarbij de spermiën zich overwegend in een rechte lijn verplaatsen.
- 2e. Een trillende beweging, waarbij de staart een trillende beweging uitvoert, die schijnbaar niet sterk genoeg is een verplaatsing van eenige beteekenis te bewerkstelligen.

- 3e. Een cirkelende beweging, waarbij de spermatozoid een ronddraaiende beweging uitvoert, met een middellijn ongeveer gelijk aan de lengte van den staart. Men ziet dit vooral bij spermïën met gebogen staarten.
- 4e. Een draaiende beweging om de lengteas van het spermatozoidlichaam, zonder dat van plaats verwisseld wordt.

Hoewel volgens Lagerlöf, Knaus (26) e. a. een goede beweging niet steeds een waarborg behoeft te zijn voor een goede bevruchting, zijn velen wel van meening, dat de onder 1e. genoemde beweging de meest gewenschte is. Deze is dan voor een goede bevruchting ook van het grootste belang.

Van verschillende zijden is getracht een maat aan te geven, waarin de activiteit van het sperma wordt uitgedrukt.

Door de Russen wordt de volgende puntenschaal aangegeven:

5. De grootste beweeglijkheid, waarbij bijna alle spermïën energiek naar voren schieten.
4. Het overgrootste deel schiet rechtlijnig vooruit.
3. Een groot aantal schiet vooruit, doch een zeker percentage is dood of heeft een draaiende beweging.
2. Bijna allen vertoonen een cirkelende, trillende of draaiende beweging, terwijl een groot aantal spermïën dood is.
1. Onbeweeglijkheid.
0. Geen spermïën.

Deze groepeerings is echter zeer oppervlakkig en weinig objectief. Juiste verhoudingen worden niet aangegeven. Zij heeft dan ook geen algemeene toepassing gevonden.

Daar de beweging bij afkoeling gaat verminderen, zóó, dat bij 5—10° C. bijna geen beweging meer is waar te nemen, is een onderzoek beneden 15° C. ongewenscht en geeft het sperma bij een temperatuur van 30—40° C. de beste activiteit te zien. Verwarming boven de vlam is niet geschikt, daar hierbij een onregelmatige temperatuursverhoging plaats

vindt en mogelijk een gedeelte van de spermatozoiden afsterft. (46° C.). Een verwarmde objecttafel is beter geschikt. Normaliter houdt de beweging niet plotseling op, doch de voortgaande verplaatsing verandert geleidelijk in een draaien om de lengteas, om geleidelijk tot stilliggen over te gaan. In de meeste gevallen kan door toevoeging van isotonische vloeistoffen weer een tijdelijke activiteit optreden.

h. Het vermogen tot bevruchten der spermatozoiden.

Volgens Sack en Amerbach (46) bezitten de spermïën twee van elkander onafhankelijke functies, nl. een motorische, welke gelocaliseerd is in het verbindingsstuk en den staart en een germinatieve, die aan den kop verbonden is. Dit laat volgens hen de mogelijkheid open, dat een goed beweeglijke cel nog wel een onvruchtbare kan zijn. Dit laatste is ook door anderen vastgesteld. Cary (3), Reynolds (43), Knaus (26) e. a. merken op, dat stieren met zeer levendig bewegende spermïën wel steriel kunnen zijn. Williams (W.W.) en Savage (63) waarschuwen, niet een te groote waarde aan de bewegingen toe te kennen. „Bewegungsfähigkeit” zegt niet onvoorwaardelijk, dat het sperma ook „Befruchtungsfähigkeit” heeft. Men is het er wel over eens, dat het bewegingsvermogen een noodzakelijke voorwaarde voor de bevruchting is, daar een verplaatsing tot de tuba een absolute eisch is.

Men heeft naar andere mogelijkheden gezocht om de „Befruchtungsfähigkeit” te kunnen vaststellen. Eén hiervan is de methode van Barcroft. Vooral de Engelschen (Walton en Edwards) houden zich hiermee bezig.

Met behulp van de respirometer gaat men den respiratiegraad na van de verschillende ejaculaten. Met 20 % KOH. wordt de uitgescheiden CO₂ geabsorbeerd, zoodat de verbruikte zuurstof kan worden nagegaan. Hoe beter het ejaculaat, hoe meer zuurstof er per tijdseenheid wordt opgenomen. Na vergelijking van de verbruikte zuurstof, den duur van de opname en de pH van het monster na de proef kan een oordeel worden gevormd over de kwaliteit van het zaad. De goede ejaculaten hebben na afloop een hooger zuurgraad dan de minder goede. Deze methode zal wellicht in de toekomst

geschikt blijken te zijn om de „Befruchtungsfähigkeit” na te gaan en om te onderzoeken, welken invloed verschillende voedermiddelen hebben op de kwaliteit van het sperma. Tot heden zijn hierover geen nadere gegevens bekend.

Lagerlöf geeft aan, dat het bevruchtungsvermogen groot is als:

- a. Het aantal spermieën niet beneden 200 millioen per c.M³. is.
- b. Het aantal afwijkende spermieën niet hooger is dan 18 %.
- c. Het aantal onrijpe spermieën gering is.
- d. De beweging goed is in een vooruitgaande richting.

2. Pathologie van het sperma.

Lagerlöf te Stockholm heeft de laatste jaren belangrijke studiën op dit gebied verricht; onderstaande gegevens zijn dan ook hoofdzakelijk geput uit zijn werk en uit zijn lezing op het congres van de National Veterinary Medical Association of Great-Britain and Ireland te Scarborough 14—18 September 1936. Verder dienen Savage (63) 1925, W. L. Williams (62) 1921, Wester (61) 1915 en M. c. Kenzie (25) 1936 genoemd te worden.

a. *Hoeveelheid.*

Volgens Ivanov en medewerkers neemt de hoeveelheid sperma bij hengsten bij veelvuldig gebruik in betrekkelijk korten tijd belangrijk af. Na eenige dagen rust is het normale volume teruggekeerd. Lagerlöf gebruikte een proefstier 28 maal in 19 dagen, waarbij na twee weken de hoeveelheid ½ c.c. bedroeg, doch bij een volgende dekking was het ejaculaat weer 3—4 c.c. Een geregelde te kleine hoeveelheid heeft hij niet waargenomen.

b. *Aantal spermieën per volume eenheid.*

De stier heeft over het algemeen een groot productievermogen van spermatozoiden. Dat ongestoord meerdere

ejaculaten in kort tijdsbestek geleverd kunnen worden is reeds vermeld. Meerdere dieren kunnen langen tijd geregeld één of tweemaal per dag een groote hoeveelheid spermatozoiden produceeren, hoewel er groote individuele verschillen zijn. Afwijkingen in het aantal spermatozoiden per volume eenheid staan veelal in verband met pathologisch-anatomische veranderingen van de testes.

Bij *hypoplasie* van de testes treft men verschillende ontwikkelingsstoringen in de ballen aan. In den regel laten zich hierbij geen spermatozoiden waarnemen.

Bij *degeneratieve* testesveranderingen is in den regel het aantal aanmerkelijk verminderd. Vaak vindt men een aantal beneden 200.000 per m.M³. Hoewel bevruchting nog wel in enkele gevallen mogelijk is, dient ze toch vaak als twijfelachtig te worden beoordeeld. Zijn echter de degeneratieve veranderingen gering en heeft men hoofdzakelijk met een functioneele stoornis te doen, dan behoeft het aantal spermïën nog niet beduidend beneden het normale te zijn.

Bij *ontstekingsprocessen* in de ballen, die dikwijls veroorzaakt worden door *brucella abortus* Bang, gaat het spermavormend vermogen veelal voor altijd verloren. De schijnbaar niet aangetaste bal degenerereert snel, zoodat geen spermatozoiden meer worden gevormd.

Bij *chronische ontstekingsprocessen* is veelal de spermato-genese opgehouden, doch er zijn gevallen, waarbij nog in verminderde hoeveelheden spermïën worden geëjaculeerd (50.000—300.000 per m.M³.)

Volgens Hutt (18) is het bevruchtungsvermogen meer afhankelijk van de kwalitatieve eigenschappen, dan van de kwantitatieve. Dit zou blijken uit gunstige resultaten, verkregen met sperma van stieren met goed bevruchtungsvermogen bij kunstmatige bevruchting, terwijl het sperma 32 keer of meer verdund was. Toch is hiervoor een minimum te stellen. Lagerlöf noemt in navolging van Sanders (47) 60.000 per m.M³. als uiterste minimum, terwijl een kleiner aantal dan 200.000 überhaupt ongewenscht is.

c. *Verschillende typen pathologische spermatozoiden.*

De kopvorm van de spermatozoid kan bij verschillende stieren wel iets verschillen, zonder dat men kan spreken, dat de een of de ander pathologisch is.

Het gaat er bij het onderzoek om, om te zien welk type voor den bepaalden stier karakteristiek is.

Als abnormalen kopvorm treft men aan dwerg- en reuzencellen resp. met een te kleinen en een te grooten kop. Deze komen betrekkelijk weinig voor. Verder kan de kop een abnormalen vorm hebben of ziet men spermatozoiden met twee koppen of twee staarten.

De staart kan wandelstokvormig gebogen zijn, hetgeen kan duiden op een aandoening aan de accessoire geslachtsorganen. Lagerlöf vond bij stieren met deze afwijking streptococcon in de zaadblaasjes. Verder zijn de staarten veelal opgerold of ziet men ze gebogen om een protoplasmalichaampje heen. Ziet men veel losse koppen, dan kan dit wijzen op een snel verloopend degeneratieproces van het epitheel. Deze koppen laten zich in den regel moeilijk kleuren. Ook kan men die koppen aantreffen, als het zaad te hardhandig behandeld is. Er zullen dan evenwel ook losse staarten aanwezig moeten zijn.

d. *Onrijpe spermatozoiden.*

Redenz (40), Roemmele (45) en Lagerlöf wijzen op het verband tusschen het protoplasmalichaampje aan den staart en de onrijpheid van de cel. Zoolang de spermatozoid zich in den kop van den bijbal bevindt, zit dit protoplasmalichaampje aan den hals; bevindt de spermatozoid zich aan het einde van den bijbal, dan is dit korreltje meer achterwaarts verplaatst. Hoe verder het lichaampje naar het einde van den staart geplaatst is, hoe rijper de cel. Volgens Lagerlöf mag men een cel onrijp noemen, als het korreltje aan den hals bevestigd is. Anderen (Roemmele b.v.) meenen, dat, ook wanneer het lichaampje zich aan den staart bevindt, men van onrijpheid moet spreken.

Bij een groot aantal onrijpe cellen in het ejaculaat is er

kans op een afwijking aan de bijballen of is er sprake van een degeneratief proces van het spermatogenetisch epitheel. Soms komt het ook voor bij een te frequent dekken, hetgeen met enkele dagen rust weer geneest.

Bevindt het sperma zich eenigen tijd buiten het lichaam, dan laten de bolletjes los, zoodat een onderzoek naar onrijp zaad spoedig na de verzameling dient te gebeuren. In een ongekleurd praeparaat lijken ze op vetbolletjes, die met Bresslau's opalblauw als donkere stippen duidelijk naar voren komen.

Bij de door Lagerlöf 2313 onderzochte stieren moesten 23 % wegens onvruchtbaarheid in een of anderen vorm worden opgeruimd. Bij goed bevruchtend zaad trof hij normaal 10—12 % abnormale cellen aan; vrij goed noemde hij een percentage van 10—20 %. Zijn er evenwel 35—40 % pathologische vormen, dan is volgens hem het bevruchtungsvermogen twijfelachtig.

e. *Cellige elementen.*

Het ejaculaat kan ook cellige elementen, b.v. epitheelcellen, cellen van de tubuli seminiferi en bloedderivaten bevatten. Deze bestanddeelen komen normaal voor, doch in te groote hoeveelheden vormen zij een aanwijzing, dat iets niet in orde is. Bij de verzameling van het sperma uit de vagina moet men er op bedacht zijn, dat een gedeelte van de aanwezige cellen ook uit de scheede afkomstig kan zijn, een reden te meer om deze methode niet te gebruiken.

f. *Afwijkingen in kleur en in beweging.*

Op afwijkingen in kleur en in beweging is reeds eerder gewezen.

3. **Sperma in het vrouwelijk genitaalapparaat.**

Bij normale dekking is het door de anatomische verhoudingen bij het rund niet mogelijk, dat het sperma direct in den uterus wordt gedeponeerd, doch het meerendeel komt terecht in de vagina.

Volgens West er zijn de zaadcellen in de vagina vrij spoedig levenloos (na 6 uur) en verdwijnen ze in korten tijd als gevolg van spermatolytische processen. Over de wijze, waarop de zaadcellen zich naar de tuba Fallopii begeven, bestaan verschillende meeningen. Bekend is, dat de spermieën in de plooiën van de cervix langen tijd kunnen leven en een groot aantal er inderdaad ook langen tijd verblijf houdt. Van hieruit bewegen zij zich naar het oviduct, waar zij na ongeveer 5—7 uur aankomen. (H a m m o n d and A s d e l l) (14), (W e s t e r) (60).

De verplaatsing geschiedt in eerste instantie door eigen beweging. De spermieën hebben de neiging stroomopwaarts te zwemmen en gaan tegen het langzaam afvloeiend slijm in. Verder vertoonen de spermatozoiden de neiging kleine lumina op te zoeken, waarin de snelheid opgevoerd wordt. Daarnaast oefent de baarmoeder een positieve chemotaxis uit, terwijl in de vagina een negatieve chemotaxis waar te nemen is, waardoor de cellen a. h. w. vanuit de vagina in de cervix vluchten. P a r k e r (38) e. a. wijzen op uteruscontracties tijdens de bronst onder invloed van het follikelhormoon. De trilhaartheorie heeft vrijwel afgedaan.

Men kan vrij zeker aannemen, dat het eene in combinatie met het andere er toe leidt, dat de bevruchting zal plaats vinden.

Het is voor de kunstmatige bevruchting ten zeerste van belang, hoelang de spermatozoiden in het vrouwelijk geslachtsapparaat hun bevruchtend vermogen behouden. Uit verschillende onderzoekingen blijkt, dat deze tijd vrij beperkt is. Bij het rund neemt men aan, dat zij dat vermogen hoogstens 30—60 uur behouden.

4. Sperma in vitro.

Normaliter kan de spermatozoid buiten het lichaam slechts een zeer korten tijd de levensvatbaarheid behouden. Het zoeken naar conserveeringsmethoden was dus in verband met de kunstmatige bevruchting van groot belang. Veel van hetgeen bekend is over de physiologie, is afkomstig van de

studie betreffende de echinodermaten en zeeinvertebraten, wier bevruchttingscapaciteit gemakkelijk kan worden nagegaan in de natuurlijke omgeving, het zeewater. Lillie (32) 1911, Cowdry (4) 1928 en Gray (13) 1928 hebben op dit gebied veel werk verricht. Er bestaat evenwel een groot verschil tusschen de spermïën van zeedieren en zoogdieren. De bevruchting bij de eersten geschiedt in een medium buiten het lichaam bij buitentemperatuur in een milieu van metaalzouten zonder voedselbestanddeelen.

Spermatozoiden zijn hoog gedifferentieerde cellen, met een eigen beweging, die de eigenschap te groeien en zich te deelen verloren hebben. Ze komen met de diverse lichaamscellen in zooverre overeen, dat zij een waterige omgeving met een osmotischen druk eischen, die alleen binnen enge grenzen mag varieeren. De zaadcel kan een betrekkelijk groot temperatuursverschil overleven, n.l. van iets boven het vriespunt tot iets boven de lichaamstemperatuur. Op ongeveer 5° C. is het zaad zoo goed als onbeweeglijk; bij langzaam verwarmen neemt het de eigen beweging weer aan, tot die bij 40° — 42° C. het grootst is. Om beneden 5° C. te gaan is ongewenscht, daar de spermïën dan beschadigd worden; boven 46° C. sterven ze onmiddellijk af. Verder zijn ze gevoelig voor alle metalen of zouten daarvan, desinfectiemiddelen, organische en anorganische zuren en basen, licht, lucht, bloed, etter en water. Bovendien ook voor snelle temperatuursveranderingen. Het desinfectiemiddel, dat het minst schadelijk is voor de constitutie van het sperma, is alcohol 65—68 %, dat dan ook als zoodanig wordt gebruikt ter reiniging van de instrumenten.

Een uitvoerige beschrijving betreffende bewaren van het sperma wordt gegeven bij de techniek van de kunstmatige inseminatie.

B. Techniek der kunstmatige inseminatie en het instrumentarium.

De voorwaarden voor een goede toepassing der kunstmatige inseminatie zijn:

- 1e. Geen nadeelige invloed op de gezondheid van de ouderdieren.
- 2e. Geen ongunstige invloed op de ontwikkeling en verderen groei van de vrucht.
- 3e. Een bevredigend bevruchtingspercentage.
- 4e. Een gemakkelijke uitvoering zonder bezwaarlijke financiële uitgaven.

De verschillende onderdeelen van de techniek kunnen worden aangeduid met:

1. Het verzamelen van het sperma.
2. Het onderzoek van het sperma.
3. Het bewaren van het sperma.
4. Het verdunnen van het sperma.
5. De injectie van het sperma.

1. Verzamelen van het sperma.

Dit kan op verschillende manieren gebeuren; vooral de Russen hebben zich hiermee veel bezig gehouden. De volgende methodes zijn dan ook voornamelijk ontleend aan de verslagen van het *All-Union Institute of Animal Breeding, Moscow*.

a. Operatieve methode.

Deze berust op het afnemen van spermatozoiden uit bal en bijbal en het overplaatsen in een physiologisch milieu. Voor de kunstmatige bevruchting heeft deze methode alleen beteekenis voor hybridisatieproeven met soorten, waarbij de mannelijke dieren moeilijk of in het geheel niet tot paring te krijgen zijn. Ook voor laboratoriumwerk wordt deze manier af en toe nog wel gebruikt.

b. *Vaginale methode.*

Hierbij wordt de copulatie op normale wijze uitgevoerd, terwijl het verzamelen volgens een viertal methoden kan plaats vinden.

1e. Directe vaginale methode.

De vagina wordt voor de dekking met een steriele gaasprop of doek gereinigd. Na de dekking wordt de scheede met behulp van een speculum geopend en het op den bodem liggende sperma met spuit en canule of lepel verzameld. Niet alle sperma kan hierbij overgeheveld worden. Verder is het een bezwaar, dat toch nog veelal verontreiniging plaats vindt.

2e. Sponsmethode.

Na reiniging van de vagina wordt vóór de dekking een spons ingebracht, waarin het uitgestorte zaad wordt opgezogen. De spons is vooraf gedrenkt in een physiologische NaCl oplossing. Dit is de klassieke manier om sperma te verzamelen ten behoeve van de kunstmatige bevruchting. (Ivanov e.a.). Een bezwaar is, dat de spermatozoiden in de mazen dringen, zoodat bij het uitknippen velen worden gelaideerd. Beweging en levensduur worden hierdoor verminderd.

3e. Verzamelaar methode.

Van verschillende kanten (Roemmele (45), Ivanov e.a.) is geprobeerd een instrument vóór de coitus in de vagina te brengen, waarin het zaad wordt opgevangen. In den regel bestond dit uit een gummizak, die in de vagina paste en met een ring om de vulva sloot. Nadeelen hiervan waren, dat de koeien meestal persten en door defaecatie het instrument bevuilden. Bovendien was het door geringe vormvastheid slecht te fixeeren, waardoor de penis van den stier er ge-

makkelijk langs ging en in de vagina terecht kwam. Door Mulder (37) is deze methode om genoemde reden verlaten. Hij nam ook irritatie van de vagina waar.

4e. Condoom methode.

De door Sand en Stribolt in Denemarken het eerst uitgevoerde manier, waarbij de penis voor de dekking wordt omhuld door een rubber condoom, heeft geen praktische toepassing gekregen. De rubber is te veel onderhevig aan verscheuringen. (Erlor) (8).

c. Rectale methode.

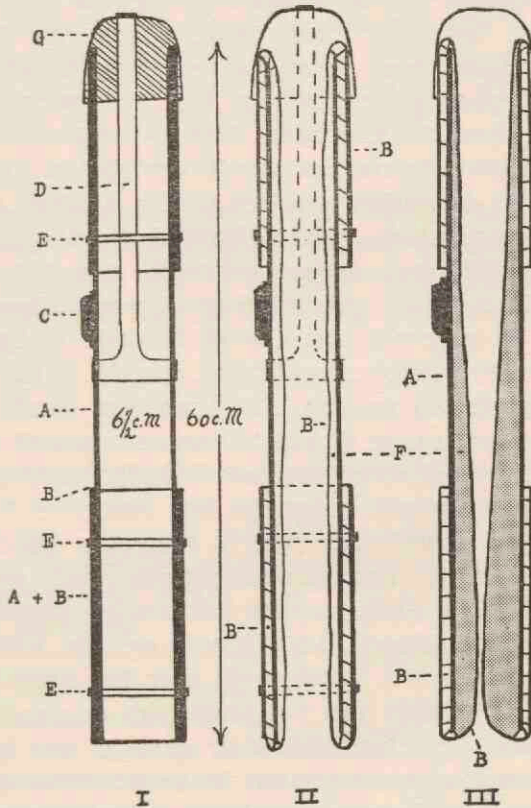
Het zijn vooral de Amerikanen (Miller en Everette) (35), die zich hiermee hebben bezig gehouden. Zij gaan met de goed ingevette hand in het rectum van den stier, dat vooraf geledigd is.

Zij raden aan eerst de zaadblaasjes te massereen, waardoor de vloeistof wegvloeit, die tóch weinig spermiën bevat. Daarna worden de ampullen gemasseerd. Volgens deze onderzoekers is het zaad van zeer goede kwaliteit en zeer geschikt voor de kunstmatige bevruchting. Pollmacher (39) en Freiling (10) evenwel hebben minder goede ervaringen. De eerste vond slechts in 27 % van de gevallen spermatozoiden in het ejaculaat en per eenheid was het aantal niet groot. Bovendien vertoonden ze weinig beweging. Een voordeel is echter, dat de dekking achterwege kan blijven en daardoor deze methode gebruikt kan worden bij waardevolle stieren, die niet op normale wijze koeien willen dekken.

d. Methode met de kunstmatige vagina.

Dit instrument bestaat uit een hardgummiebuis van 60 c.M. lengte, 6½ c.M. doorsnede, waarbinnen zich een buis van zachte rubber bevindt, die aan de uiteinden aan de eerste waterdicht verbonden is. Hierdoor ontstaat een ruimte tus-

schen den hardgummie- en zachtgummie wand, welke wordt opgevuld met water van ongeveer 50° C., dat door een vuldop, die in den buitenwand ge Vulcaniseerd is, naar binnen gegoten



Kunstmatige vagina (schematische voorstelling).

- I. Uitwendig aanzicht.
 - II. Lengte doorsnede (de waterruimte niet gevuld).
 - III. Lengte doorsnede (de waterruimte gevuld).
- A. Hard gummi buis.
 - B. Zacht gummi buis.
 - A + B. Hard gummi + zacht gummi wand.
 - C. Vuldop.
 - D. Elastische band (voor het fixeeren van den opvangbeker).
 - E. Elastische ring (voor het fixeeren van de zacht gummi buis om de hard gummi buis).
 - F. Waterruimte.
 - G. Opvangbeker.

kan worden. De binnenwand wordt ingevet met vaseline, het eene einde blijft open, het andere wordt afgesloten met een beker (collector).

Om het sperma op te vangen springt de stier op een tochtige koe; het instrument wordt met een hoek van ongeveer 60° naar boven gehouden, waardoor de wanden aan de ingevette opening samenvallen. De penis wordt met een handige manipulatie aan den ingang van de ingevette opening geplaatst, de nastoot wordt verricht en het sperma is verzameld in den beker aan het andere uiteinde.

Op meerdere plaatsen, ook in Rusland, wordt inplaats van een tochtige koe met succes gebruikt gemaakt van een phantoom. L u n d (33) gebruikte een ijzeren geraamte met leer bekleed en opgevuld met vlas en hennep. In het achter-einde is een open ruimte aangebracht, waarin de kunstmatige vagina bevestigd kan worden. Het phantoom wordt normaal besprongen, waarna door de kracht van den nastoot de vagina automatisch met het vooreinde naar beneden valt, zoodat het sperma de gelegenheid krijgt in het reservoir te loopen. Volgens L u n d ejaculeerde 94,6 % van zijn materiaal (60 stuks); F u c h s (11) had hiermee minder goede ervaringen, terwijl F r e i l i n g (10), wegens het slechte succes, geheel van deze methode afzag. L u n d bewees evenwel hiermee, dat geen geslachtsreuk e. d. noodig zijn voor het verrichten van de dekking. Hij raadde aan het phantoom te plaatsen in de omgeving, waar de betreffende stier gewend was te dekken.

Door het sperma op te vangen in de kunstmatige vagina is verontreiniging uitgesloten en komt het niet in aanraking met het vrouwelijk geslachtsapparaat.

e. *Electrische prikkeling.*

Door G u n n (Australië) is deze methode ontdekt en geschikt gemaakt voor het verzamelen van sperma bij rammes, waarbij zij door W a l t o n uit Cambridge ook met succes is gebruikt. Eén pool van een electrode, die behalve aan de punt geheel geïsoleerd is, wordt in het rectum gebracht. De andere wordt in den vorm van een naald ter hoogte van de vierde lendenwervel in de rugspieren geplaatst. Een wisselstroom

van ongeveer 30 volt wordt door het ejaculatiecentrum geleid. Door afwisselend den stroom 4 seconden in te schakelen en 10 seconden te onderbreken, wordt na 3 of 4 maligen stroomtoevoer sperma geëjaculeerd, wat in een buisje kan worden verzameld. Het is noodig den ram iets te narcotiseren. De methode heeft geen slechte gevolgen voor het dier. Er zijn mij geen publicaties bekend, waaruit zou blijken, dat deze methode ook bij stieren is toegepast.

Ter vergelijking van een viertal methoden volgt onderstaande staat, ontleend aan Russische gegevens. Voor een goede vergelijking zijn deze proeven genomen door het sperma bij dezelfde vier stieren op de verschillende manieren op te vangen.

	Spons methode	Vaginale methode	Kunstmatige vagina	Sperma-verzamelaar
Aantal spermieën per c.M. ³ in millioenen.	23,74	474,72	412,00	958,95
Graad van activiteit der spermatozoiden. (procenten)				
Zeer actief.	0,0	0,0	0,0	19,0
Actief.	61,0	79,0	57,0	71,5
Weinig actief.	17,4	21,0	43,0	9,5
Onbeweeglijk.	21,6	0,0	0,0	0,0
Aantal uren levensvatbaar buiten het lichaam.	58,16	?	96,0	106,6
Volume van één ejaculaat in c.M. ³	6,4	3,2	2,5	2,6
Aantal spermieën van één ejaculaat. (in millioenen)	240,76	1704,7	1654,8	2351,3

Wij kunnen de volgende conclusies hieruit trekken:

- a. De sponsmethode geeft veel minder spermieën per eenheid; de hoogste concentratie wordt verkregen met den verzamelaar.
- b. De sponsmethode geeft de meeste onbeweeglijke spermatozoiden, terwijl bij den verzamelaar de grootste activiteit optreedt.
- c. De levensduur van de spermieën bij de sponsmethode is veel geringer, dan bij de kunstmatige vagina en verzamelaar.
- d. De sponsmethode geeft geen goed inzicht in de hoeveelheid.
- e. Met de verzamelaarmethode kan sperma verkregen worden, dat aan zeer hooge eischen voldoet.

Bij mijn onderzoek heb ik, omdat de verzamelaarmethode praktisch onbruikbaar is, steeds de kunstmatige vagina gebruikt, daar hierbij geen verontreiniging op eenigerlei wijze van het sperma optreedt en deze methode, gezien de gegevens in bovenvermeld staatje, aan redelijke eischen voldoet.

2. Onderzoek van het sperma.

Nadat het sperma verzameld is, wordt het nauwkeurig gecontroleerd om vast te kunnen stellen of het voor bewerking geschikt geacht mag worden.

3. Bewaren van het sperma.

Alle schrijvers zijn het er over eens, dat getracht moet worden de kinetische energie van het sperma zoo goed mogelijk te bewaren, willen de spermatozoiden zich in de vrouwelijke geslachtsorganen kunnen voortbewegen. Een grootere bewegingssnelheid zal de energie spoediger verbruiken, de afbraakproducten (koolzuur) zullen toenemen en daar geen

verversching plaats heeft, zal de stofwisseling gestoord worden. Alle voorzorgsmaatregelen dienen dus genomen te worden om de bewegingssnelheid buiten het lichaam zoo laag mogelijk te doen zijn, terwijl *die* invloeden vermeden moeten worden, welke een nadeeligen invloed hebben op de constitutie van het zaad.

Roemmele (45) heeft waargenomen, dat de beweging vermindert bij plaatsing in het donker, bij afsluiting van de buitenlucht en bij verlaging van de temperatuur. Proefondervindelijk is gebleken, dat 5° — 12° C. de optimale temperatuur is, d.w.z. dat bij die temperatuur het zaad het langst levenskrachtig blijft. (Ivanov e. a.). Hammond en medewerkers noemen 9° — 12° C. Hans Weber (59) geeft het volgende staatje:

bij 0° C.	een levensduur van	96 uur.
„ 5° — 12° C.	„ „	209 „
„ 18° — 22° C.	„ „	40 „
„ 38° C.	„ „	8 „

Met levensduur wordt hier beweeglijkheid bedoeld, nadat het sperma weer op temperatuur is gebracht; dit wil nog niet zeggen, dat bevruchtingen mogelijk zijn.

Vele onderzoekers houden zich nog met dit onderwerp bezig. Algemeen is men van oordeel, dat de voorwaarden voor het bewaren van het sperma, met een kans op een zoo groot mogelijke levensvatbaarheid en bevruchtungsvermogen, als volgt kunnen worden samengevat:

- a. Zoo rein en zoo steriel mogelijk verzamelen en bewaren in een glazen buisje van geringe doorsnede.
- b. Zoo vlug mogelijk afsluiten van de buitenlucht. Dit wordt gedaan met een laagje parafinum liquidum en geeft behalve een geringere beweging ook nog het voordeel, dat geen koolzuur kan ontsnappen, waardoor een ongewenschte alcaliciteit van de vloeistof zou ontstaan.
- c. Zoo snel mogelijk in het donker plaatsen.

- d. Gradueel afkoelen, door het eerst in een thermosflesch met water te plaatsen van 20° C. en na een uur in een flesch met een temperatuur van 10° C. Bij het in gebruik nemen gaat men weer gradueel verwarmen.
- e. Contact met water, metalen, zouten, zuren, basen, anti-septica e.d. vermijden.

Sperma, op deze manier bewaard, kan langen tijd goed blijven; in enkele gevallen zelfs tot 7 dagen.

Küst (30) kon onder bovenstaande voorwaarden het rundersperma 368 uren in beweging houden.

Van een groep dieren, die bevrucht werden met sperma, dat 48 uur oud was, werden 60 % dragend. Ook werden eenige met succes bevrucht met sperma, dat 120 uur was bewaard.

4. Verdunning van het sperma.

Hiervan is een uitvoerige studie gemaakt met het doel van één ejaculaat een zoo groot mogelijk aantal dieren te kunnen behandelen. Milovanov en Selivanova hebben zich hiermede veel bezig gehouden.

Ivanov (24) en Redenz (41) vonden, dat beweging in een anaeroob milieu mogelijk is onder toevoeging van glucose, doch dat weer zuurstof noodig is voor de volle activiteit. Dit is van groot belang in verband met de vindingen van Yamane (64) en Baker (2), nl. dat glucose oplossingen gebufferd met fosfaten zeer gunstig werken op de beweging. Milovanov en Selivanova bevelen dan ook glucose-phosfaatmengsels aan, waarmee zij optimale resultaten hebben bereikt. Zij melden verder, dat peptonen en lipoiden den levensduur gunstig beïnvloeden.

De meeste aanbevolen verdunningsvloeistoffen verhoogden de activiteit, hetgeen de cel vroeger doet afsterven.

De beweeglijkheid gaat parallel omhoog met den verdunningsdraad, tot een punt, waarop de activiteit het grootst is. Dit is het *verdunningsoptimum*, dat specifiek is voor elk milieu. Bij een hoogere verdunning vermindert weer de

beweeglijkheid tot een punt, waarop het zaad weer even actief is als in het onverdunde stadium. Dit is het *verdunningsmaximum*, dat eveneens specifiek is voor elke verdunningsvloeistof. Gaat men boven dit maximum, dan veroorzaakt dit een negatief effect. De vloeistof wordt giftig en de spermatozoiden onbeweeglijk. De verdunningsvloeistoffen hebben dus tweeërlei uitwerking; aan den eenen kant wordt het sperma geactiveerd, terwijl aan den anderen kant de eigenschappen, die noodig zijn voor de normale functioneering van de spermatozoiden, worden benadeeld. Bij lage verdunningen schijnt dit geen bezwaar te zijn.

In het laboratorium voor kunstmatige bevruchting te Moskou zijn empirisch verschillende verdunningsvloeistoffen uitgewerkt met onderling verschillende optima en maxima.

Deze worden aangeduid met G.P.C., hetgeen wil zeggen glucose-phosfat-cattle. De meest elementaire vorm hiervan is de G.P.C.₁, waarin 60 gram glucose met 33,6 gram Na₂HPO₄ 12 H₂O en 3,2 gram KH₂PO₄ in 1000 gr. water vermengd wordt. Het optimum hiervan is 2 en het maximum 8. Dus door 2 × met dit mengsel het sperma te verdunnen, wordt de beweeglijkheid maximaal; door met 8 × te verdunnen wordt zij weer als vóór de vermenging.

Na toevoeging van Ca en Mg zouten zijn de minimale verdunningen vergroot tot een optimum van 4 en een maximum van 64. (G.P.C.₂).

De GPC₃ ontstaat na toevoeging van sulfaten. Optimum verdunning 8, maximum verdunning 128.

De samenstellingen zijn de volgende:

GPC₁

60	gram	glucose	
33,6	„	Na ₂ HPO ₄ H ₂ O(12)	optimum 2
3,2	„	KH ₂ PO ₄	maximum 8
1000	„	H ₂ O	pH 7,4

GPC₂

60	gram	glucose	
33,6	„	Na ₂ HPO ₄ ·H ₂ O (12)	
3,2	„	KH ₂ PO ₄	optimum 4
0,1	„	CaHPO ₄	maximum 64
0,1	„	MgHPO ₄	pH 7,4
1000	„	H ₂ O	

GPC₃

57	gram	glucose	
34,1	„	Na ₂ HPO ₄ ·H ₂ O (12)	
1,4	„	KH ₂ PO ₄	optimum 8
0,1	„	CaHPO ₄	maximum 128
0,1	„	MgHPO ₄	pH 7,6
1,7	„	Na ₂ SO ₄	
1000	„	H ₂ O	

De zouten worden in 1000 gram water opgelost en in ampullen van 20 gram bewaard. Ook de overeenkomende hoeveelheid glucose bewaart men in afgesloten buisjes. Kort voor het vermengen met het sperma wordt de glucose bij de zoutoplossing gevoegd. Door de chemische veranderingen, die plaats vinden, blijft het mengsel slechts gedurende korten tijd voor het gebruik geschikt.

Voegt men bij G.P.C.₃ lipoiden (lecithine), dan verkrijgt men een verdunningsoptimum van 16 en een -maximum van 256. Voegt men hierbij nog pepton, dan worden de getallen 32 en meer dan 1000.

Verdere proefnemingen zijn nog gaande en het laat zich aanzien, dat men media zal kunnen scheppen, waarin de spermatozoiden in staat zullen zijn toegevoegde stoffen te assimileren, waardoor de levensduur aanmerkelijk wordt vergroot.

In de practijk wordt de GPC₃ het meest gebruikt.

Küst (30) acht verdunning met physiologische zoutoplossing gelijk aan die met de glucosephosfaatoplossingen en noemde een 5 malige verdunning als goed bruikbaar, waarbij de samenvoeging onmiddellijk vóór het gebruik dient te geschieden.

Om nog een bevredigend percentage bevruchtigen te verkrijgen, kan men niet ongestraft door gaan met verdunnen, ook al is de beweeglijkheid tot een zekere hoogte opgevoerd. Het aantal spermatozoiden blijft ook van belang. Voor de GPC's, die door mij is gebruikt, wordt het volgende staatje aangegeven:

Plaats	Werkers	Aantal dieren	Percentages bij verschillende verdunningsgraden							
			on-verdund	2×	4×	8×	16×	32×	64×	128×
North Donetz	Verevkina Skatkin	250	25	48	62,5	58,5	50	52,7	53,5	0
Armavir	Volkov	120	51	70	81	83	83	86	0	0
Stavropol	Karashev	120	90	84	92	91	92	98	0	0

Hieruit blijkt, dat tot een 32 malige verdunning geen achteruitgang van bevruchtigen zijn waargenomen. Er schijnt een grens te komen, waarboven bevruchtigen uitblijven; voor de verdunning G.P.C.'s ligt deze grens tusschen 32 en 64.

Bij verdunningsvloeistoffen met peptonen zijn bij nog hogere verdunningen normale bevruchtigingspercentages waargenomen en wel bij 160× 80 % en zelfs bij 320× nog 55,5 %.

5. Injectie van het sperma.

Walton (58) geeft hiervan de volgende beschrijving: De eerste handeling is de verdunning van het sperma. De glucose wordt bij de zoutoplossing gevoegd en door schudden opgelost. Het sperma wordt afgemeten en met behulp van een pipet overgebracht in een goed gereinigd en gedroogd buisje (bij zonlicht werkt men het beste met bruin gekleurd glaswerk). Hiermede wordt eenzelfde hoeveelheid verdunningsvloeistof genomen en druppelsgewijs toegevoegd.

Door langzaam schudden worden sperma en vloeistof vermengd. Men neemt nu een glazen spuitje van 2—5 c.c. en een ebonieten canule met een inhoud van 0,3 c.c. en een lengte van 40 c.M. Beide worden vooraf goed gereinigd en gedesinfecteerd met 65—68 % alcohol en daarna doorgespoten met de verdunningsvloeistof. Men neemt nu ongeveer $\frac{1}{2}$ c.c. van het mengsel in de spuit en zorgt, dat alle luchtbelletjes er uit verdwenen zijn.

De te behandelen koe wordt goed gefixeerd, de vagina geopend met een snoekbekvormig speculum, dat door de Russen ontworpen is. Na met paraffinum liquidum te zijn ingevet, wordt het over-dwars in de vagina geschoven, een kwart slag gedraaid en wordt de bek van het instrument geopend. De cervix is nu duidelijk te zien, waarbij een verlichtingsapparaat goeden dienst bewijst. Daarna wordt de punt van de canule ongeveer $1\frac{1}{2}$ c.M. in de cervix geplaatst en laat men het sperma langzaam geheel in de cervix vloeien. De geheele hoeveelheid dient er in te blijven en niet in de vagina terug te loopen. Spuit en canule worden nu vlug, doch voorzichtig teruggetrokken en na gebruik weer gereinigd en gedesinfecteerd met alcohol.

HOOFDSTUK IV.

EIGEN ONDERZOEK.

1. Materiaal.

Bij de inleiding is reeds gezegd, dat de aanleiding tot het bestudeeren van de toepassing der kunstmatige inseminatie vooral was gelegen in de overweging of zij bij de bestrijding van de steriliteit onder het rundvee zou kunnen worden dienstbaar gemaakt. Uit de volgende bladzijden zal blijken, dat er dieren zijn geïnsemineerd, waarbij geen klinische symptomen werden aangetroffen, terwijl verder nog een groot percentage werd behandeld, dat verschillende afwijkingen vertoonde.

Meerdere veehouders kwamen, omdat de koeien bij een bepaalden stier na één of meer dekkingen niet bevrucht waren; anderen lieten dieren behandelen, die aan endometritis geleden hadden (retentio secundinarum, abnormale verlossingen e. d.), zoodat hier zuiver preventief werd gewerkt.

In het jaar 1936 zijn door mij behandeld 273 dieren; in 1937, 572. Deze 845 gevallen zullen het materiaal vormen voor de bespreking. In het seizoen 1938 zijn ongeveer 1200 dieren kunstmatig bevrucht. Hieruit zijn door mij 139 gevallen genomen en gevoegd in de rubrieken, waartoe zij behooren. Deze selectie is zoodanig gekozen, dat de belangrijkste rubrieken iets grooter werden. De beoordeeling steeg daardoor in waarde. Voor de betreffende rubrieken heb ik *alle* gevallen genomen, zoodat het gemiddelde niet is beïnvloed.

Het overgrootste deel van de niet vermelde gevallen waren

dieren, die in 1938 niet eerder waren gestierd. De resultaten hiervan dekten genoegzaam de gegevens van voorgaande jaren.

2. Werkmethode.

Om het sperma te verkrijgen, liet ik den stier springen op een nymphomane koe. Soms maakte ik ook wel gebruik van twee stieren. Dit gaf bovendien het voordeel, dat bij weigering van den een, de ander in den regel wel genegen was te dekken. De berichten over bronstige koeien liet ik 's morgens vóór negen uur en 's avonds vóór 7 uur aanbrenge, zoodat tweemaal per dag de behandeling werd uitgevoerd. Het leek mij te riskant de dieren, die tegen den middag bronstig werden tot den volgenden morgen te laten wachten. Daar de bevruchtingen gedurende de practijk-bezigheden dienden te geschieden, stelde ik als voorwaarde, de dieren aan of nabij den harden weg vast te binden, opdat geen tijd verloren zou gaan. Dit was noodzakelijk, daar af en toe 14—18 koeien per dag behandeld moesten worden.

a. *Verzamelen van het sperma.*

De eerder beschreven kunstmatige vagina wordt gevuld met water van 45°—60° C. Op het moment van den sprong mag de temperatuur niet hooger zijn dan 45° C., daar anders de spermien door de warmte beschadigd worden. Met een thermometer leest men de warmte aan den binnenwand van de vagina af en door toevoegen van warm, eventueel koud water, kan men de temperatuur zoodanig regelen, dat zij de gewenschte hoogte heeft bereikt.

De hoeveelheid water dient met zorg te worden bepaald en moet zóó zijn, dat de binnenwand de juiste weerstand biedt, opdat de stier den nastoot willig gaat uitvoeren.

Bij een te lagen druk is de nastoot krachteloos, waarbij in den regel alleen vloeistof van de accessoire klieren wordt geloosd, af en toe vermengd met spermatozoiden in geringe



Foto I.

Het verzamelen van sperma.

concentratie. Bij een te hoogen druk wordt de nastoot in het geheel niet uitgevoerd.

Na het vullen wordt de binnenwand aan het open einde met een gladde glazen staaf over drie-vierde van de lengte van de buis ingewreven met een dun laagje witte of gele vaseline. Men draagt hierbij zorg, dat niet te veel vaseline achterblijft, daar anders een gedeelte ervan in de spermavloeistof terecht komt, wat een ongewenschte verontreiniging geeft. De stier springt nu normaal op de koe. Men neemt de gepraepareerde vagina in de rechterhand (foto I), terwijl met de linker het praeputium (dus niet de penis) wordt omvat en de reeds uitgeschachte penis in de ingevette opening wordt gestuurd. De vagina wordt hierbij onder een hoek van 45° — 60° schuin omhoog gehouden. In den regel oefent de stier den nastoot gemakkelijk uit, waarbij een kort heen en weer schudden van de vagina vaak wonderen kan doen. Door het ander uiteinde van het instrument neerwaarts te richten, wordt het sperma verzameld in het reservoir, dat met een stevigen rubberband eraan bevestigd is. Ik gebruik daarvoor steeds een gewoon passend bekerglas, dat gemakkelijk schoon te maken is. De elders gebruikte „collectors” zijn moeilijker te reinigen en bovendien duur in aanschaffing. Door het breken ervan heeft men nog al eens een nieuwen verzamelaar noodig.

Door middel van een pipetje met gummikapje, of een glazen spuitje wordt terstond de vloeistof in een betrekkelijk nauw reageerbuisje overgeheveld en wanneer het niet direct verbruikt wordt met een dun laagje paraffinum liquidum bedekt. Wanneer met éénmaal verzamelen per dag werd volstaan, werd de helft van het verkregen sperma onverdund in den kelder geplaatst. Dit werd gereserveerd voor de bevruchtungen in de avonduren. Om evenwel de kans op mislukkingen zoo gering mogelijk te doen zijn, verzamelde ik, in het overgrootste deel van de gevallen, tweemaal daags.

Het glaswerk was steeds goed gereinigd en vooral absoluut droog.

Voor de practische uitvoering van de kunstmatige bevruchting is het van groot belang, steeds de beschikking te

hebben over een stier, die een voldoende hoeveelheid zaad levert van goede kwaliteit en die genegen is, tweemaal daags in de kunstmatige vagina te dekken. Twee jaar lang heb ik gebruik gemaakt van een stier, die bij aankoop 14 maanden oud was. In den aanvang was het niet noodig tweemaal daags de verzameling te doen; het tweede jaar was dit wel het geval. Met een onderbreking van ongeveer een week in de eerste periode, heeft het dier steeds aan dien eisch kunnen voldoen. Toen ik evenwel in het seizoen 1938 wederom jonge stieren trachtte te gebruiken, bleek het niet mogelijk, dieren beneden 1½ jaar gedurende langen tijd tweemaal daags te laten springen. Na eenigen tijd werd de concentratie van het sperma aanmerkelijk minder, hetgeen zich met een paar dagen rust weer herstelde. Volgens mijn ervaring zal een stier, die aan bovengenoemde eischen zal kunnen voldoen, minstens 2 jaar oud moeten zijn.

Van belang was ook na te gaan of er veel of weinig stieren genegen waren in de kunstmatige vagina te dekken. Hiervoor heb ik tot heden 98 stieren geprobeerd. In zeer veel gevallen lukte de dekking in een minimum van tijd. De stieren waren van elken leeftijd; een verschil in jonge en oudere werd niet waargenomen.

Een vijftal gevallen had geen resultaat, waarvan twee meerdere malen zijn geprobeerd. Vier hiervan vertoonden een geringe uitschacting van de penis. De aanraking met den binnenwand van de scheede scheen te weinig prikkeling te veroorzaken om den nastoot te doen plaats vinden.

De verkregen hoeveelheid sperma varieerde van 1—8½ c.M³., waarvan de oudere stieren de grootste hoeveelheden gaven. Stieren beneden 1½ jaar leverden in den regel ongeveer 1—2 c.M³.

Resumeerende kunnen voor de kunstmatige inseminatie aanbevolen worden stieren, welke een goeden deklust hebben, een flinke hoeveelheid zaad leveren van goede kwaliteit en bij het bespringen der koe voldoende uitschachten.

b. Spermaonderzoek.

Steeds werd voor de injectie het sperma microscopisch

onderzocht. Na de behandeling werd dit met een overgebleven restje herhaald. Daar bij kamertemperatuur geen goed oordeel over de beweging te verkrijgen was, moest het praeparaat worden verwarmd. Een verhitten in de vlam beviel mij niet; het koelde weer te snel af en het beeld was niet gelijkmatig, daar een gedeelte soms te veel geleden had van een te hooge temperatuur. Een verwarmde objecttafel bezat ik niet. Om toch een gelijkmatig beeld te verkrijgen heb ik om de microscoop een kistje laten maken (foto II), van triplexhout met afmetingen van 25 c.M. breedte, 20 c.M. hoogte en 25 c.M. diepte. Van het deksel kan de helft worden afgeschoven, waardoor de microscoop in het kistje geplaatst wordt. In het deksel is een vorm uitgesneden, overeenkomende met den vorm van de microscoop, zoodat een gedeelte van de tube, macrometer- en micrometerschroef er buiten blijft. In den zijwand is een deurtje (10×12 c.M.), waardoor het praeparaat in- en uitgeschoven kan worden. Binnenin bevindt zich een kooldraadlampje als warmtebron en een thermometer voor het bepalen van de temperatuur. De benodigde warmte is niet aan een bepaalde hoogte gebonden, doch mag varieeren tusschen 26 en 40° C. Men zou dit kistje „couveuse” kunnen noemen. Op deze manier is het mogelijk een spermabeeld te verkrijgen, dat gedurende eenigen tijd niet aan verandering onderhevig is en waarbij bovendien de verschillende spermamonsters bij éézelfde temperatuur met elkaar vergeleken kunnen worden. De meest geschikte temperatuur voor het onderzoek acht ik 32° C.

Om aan een bepaald ejaculaat bevruchtingskracht met zekerheid te constateeren, is een moeilijk probleem. Men kan het eigenlijk niet eerder bevruchtingskrachtig noemen, dan wanneer in werkelijkheid de bevruchting tot stand is gekomen. „Bewegungsfähigkeit” en „Befruchtungsfähigkeit” moeten in de practijk meer synoniem genomen worden, dan strikt is verantwoord, maar nood breekt wet.

Voor de microscopie beveelt men vrij algemeen een 300-voudige vergrooing aan (objectief 7 Leitz of DD Zeisz met oculairen 2 of 4). Inderdaad kan men van een zeer klein druppeltje op het objectglas (met dekglasje) een globalen

indruk krijgen over de beweging, terwijl ook de dichtheid zich im groszen und ganzen laat beoordeelen.

Een grens, waartoe men zou willen gaan, om het zaad al dan niet voor bevruchting te durven aanbevelen, is niet gemakkelijk aan te geven.

De kleurmethoden nemen in de practijk der kunstmatige bevruchting in den regel te veel tijd.

Bij de beoordeeling bij 100-malige vergrooting (Zeisz AA, Leitz 3 met oculairen 2 of 4) is bij geringe verwarming een stroombeweging waar te nemen, waarbij wolken spermatozoiden in en uit elkaar gedreven worden, zoodat donkere en lichte plekken elkaar snel afwisselen. Men kan dit vergelijken met regenwolken, die door den storm in en uit elkaar gejaagd worden. Bij herhaald onderzoek is mij gebleken, dat in sperma, waar deze wolkenvorming zeer actief is, relatief weinig abnormale cellen voorkomen, terwijl een goede vooruitgaande beweging valt te constateeren.

Bij sperma met veel pathologische cellen of bij sperma, dat door een langer verblijf buiten het lichaam de beweeglijkheid grootendeels heeft verloren, is de wolkenvorming in veel mindere mate of in het geheel niet waar te nemen. Men ziet dan een krioelen van individueele staafjes, die evenwel niet of in geringe mate van plaats verwisselen.

Bij scherp toekijken is macroscopisch in het ejaculaat deze wolkenvorming te zien als een vlokkerig aspect, dat zich verplaatst.

Voor de bestudeering van de wolkenvorming neemt men een klein druppeltje sperma op een voorwerpglasje *zonder* dekglasje.

Uit de latere beschrijvingen zal blijken, dat door mij aan deze wolkenvorming speciale aandacht is besteed, met betrekking tot het bevruchtungsvermogen van de diverse ejaculaten.

Het spreekt van zelf, dat ook steeds aandacht is geschonken aan de kleur, hoeveelheid en concentratie van het sperma. Ook werden af en toe uitstrijkjes gemaakt en gekleurd met Bresslau's opalblauw, om het aantal abnormale en onrijpe

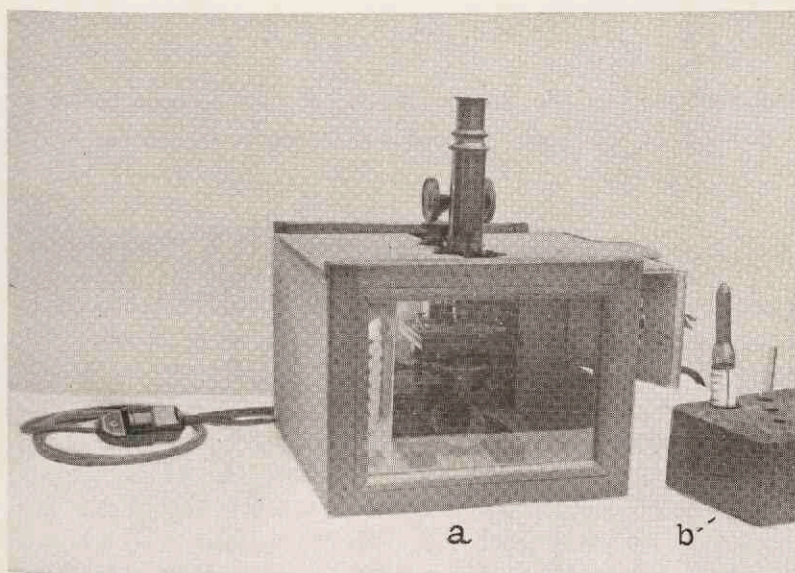


Foto II.

- a. Microscop „couveuse” met microscop.
- b. Houten blok voor het bewaren van buisjes met sperma.

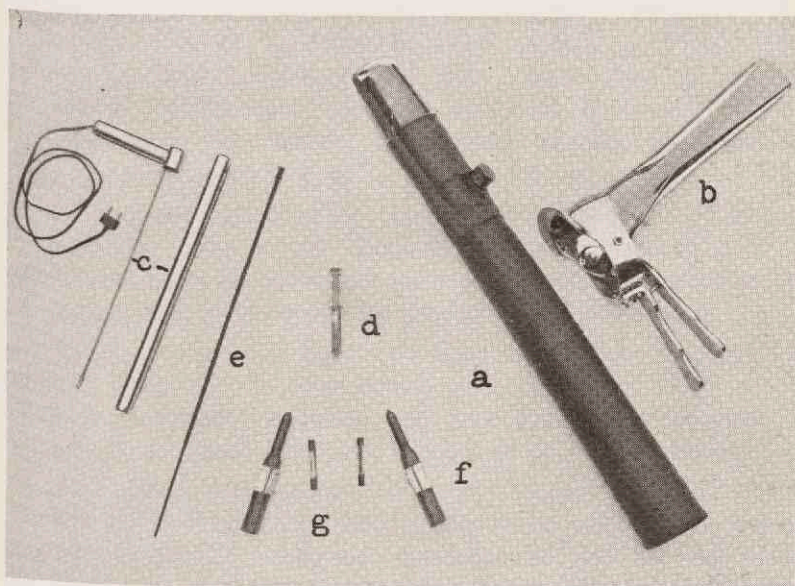


Foto III.

- a. Kunstmatige vagina met opvang beker.
- b. Snoekvormig speculum.
- c. Vaginoscoop.
- d. Glazen injectie spuitje.
- e. Canule.
- f. Ampul met fosfaat oplossing.
- g. Buisje met glucose.

spermatozoiden vast te stellen, vooral, als er in verband met de verminderde beweeglijkheid aanleiding toe bestond.

c. *Inseminatie.*

Na het sperma beoordeeld te hebben werden de te behandelen dieren bezocht. De spermavloeistof werd meegenomen in kleine glazen buisjes bedekt met een laagje paraffinum liquidum. Om de buisjes een loodrechten stevigen stand te geven heb ik in een blok eikenhout, van 15 c.M. lengte, 8 c.M. hoogte en 12 c.M. breedte, een 14-tal gaten laten boren met een varieerende middellijn van 10—15 m.M., waarvan twee worden gebruikt voor de ampullen met de glucose en fosfaat verdunners. Het ejaculaat is daardoor tevens beschermd tegen het zonlicht. (Foto II.)

Als verdunningsvloeistof gebruikte ik steeds de glucose-fosfaat verdunner GPC₃, die door de Firma Brocades en Stheeman werd gefabriceerd. De vloeistof werd zoo kort mogelijk vóór de inseminatie, met behulp van een pipet, druppelsgewijs toegevoegd. Al naar gelang van de behoefte werd de verdunning één tot vijfmaal genomen. In vele gevallen heb ik evenwel onverdund sperma gebruikt, n.l. wanneer er weinig dieren te bevruchten waren.

De injectie geschiedde op dezelfde wijze als hiervoren beschreven. Een helper fixeerde het dier, waarbij met één hand de staart in bedwang werd gehouden en met de andere de neus werd omklemd. Zoonoodig bediende ik mij van een lamp om de cervix te belichten. Steeds werd $\frac{1}{2}$ —1 c.c. sperma, zoowel verdund als onverdund, geïnsemineerd.

Voor hokkelingen bleek mij het Russische speculum te groot. Ten behoeve daarvan heb ik een instrument laten vervaardigen, dat bestaat uit een metalen buis van 2 c.M. doorsnede en 33 c.M. lengte. Hierdoor loopt een metalen stang van 3 m.M. dikte, aan het uiteinde waarvan een lampje is bevestigd, dat via de stang in verbinding staat met een zakbatterij. Men krijgt nu een lichtbundel aan het einde van de buis, zoodat vagina en cervix duidelijk belicht zijn. Door

de canule door de buis in te voeren kan de inseminatie plaats vinden (foto III).

Deze vaginoscoop heeft mij ook goede diensten bewezen bij de inwendige inspectie van de vagina met de cervix, terwijl ik het instrument ook meermalen heb gebruikt bij de bevruchting van oudere koeien.

Steeds nam ik twee specula mee, om na een geïnfecteerd dier behandeld te hebben, een ander te kunnen nemen. Bij thuiskomst werden alle instrumenten gereinigd als vroeger is aangegeven.

Voor het verwijderen van de waterrestjes uit de canule maakte ik gebruik van de ballon met slang van het lucht-insufflatieapparaat.

HOOFDSTUK V.

KUNSTMATIGE INSEMINATIE BIJ NORMALE RUNDEREN.

LITERATUUR.

In de literatuur hieromtrent zijn weinig gegevens vermeld. Werner Fuchs (11) insemineerde slechts op 3 dagen in de week, nl. Maandags, Woensdags en Vrijdags, zoodat het voorkwam, dat koeien werden geïnsemineerd, die niet meer in den oestrus verkeerden. Hij verkreeg in drie dorpen, waar resp. 114, 363 en 98 gevallen waren behandeld, een bevruchtingspercentage van 93,59 %, 90,56 % en 80,18 % bij een éénmalige bevruchting. De dieren, die niet meer in de bronst verkeerden, werden bij de berekening uitgeschakeld. Hij gebruikte steeds een vijfmalige verdunning met GPC₃, fixeerde de cervix, door met de tang van Albrechtsen den onderkant van de cervix te pakken en spoot het sperma gedeeltelijk in de cervix en gedeeltelijk in den uterus. De hoeveelheid verdund sperma bedroeg 1½—2 c.M³. Verder beschouwde hij het hoogtepunt van de bronst als den gunstigsten tijd voor een succesvolle behandeling.

Küst (30) spreekt van een bevruchtingspercentage van 60—75 % over 800 dieren. Hij zegt evenwel niet of dit normale runderen waren of steriliteitsgevallen.

De publicaties uit Rusland vermelden dat van de 300.000 in 1932 geïnsemineerde runderen 71 % levende jongen wierpen. Men spreekt van een gemiddeld bevruchtingspercentage van 84 %, terwijl door elkaar van elken stier

1200 koeien werden bevrucht. In goed ingerichte laboratoria kon het sperma 4 dagen levenskrachtig gehouden worden.

Gegevens over het gemiddelde bevruchtingspercentage van stieren bij gewoon dekken zullen zeer moeilijk zijn te verzamelen, daar de omstandigheden, waaronder de dekkingen plaats vinden zoo verschillend zijn. De stamboekgegevens leenen zich er niet voor, daar niet alle dekkingen worden geregistreerd. De eene fokker oefent een veel scherpere contrôle uit op de dekinfecties dan de andere, terwijl de beste stieren in den regel meer geselecteerd materiaal toegevoerd krijgen. Verder wordt geen contrôle uitgeoefend op het sperma van de stieren, zoodat ook de stalboekjes van de veehouders hiervoor minder geschikt zijn. Veel is hierover niet gepubliceerd. Sciuchetti (50) geeft als gemiddelde voor het Bruinvee in Zwitserland 75,2 % en voor het Simmenthaler ras 69,1 %. Een vergelijking met onze toestanden gaat ten eenen male niet op. In den regel geldt, hoe hooger het veeslag geselecteerd is op melkproductie, hoe lager het bevruchtingspercentage.

Wat het rundvee in Nederland betreft, zijn over de bevruchtingspercentages geen gegevens bekend.

EIGEN ONDERZOEK.

A. Kunstmatige inseminatie bij koeien in den oestrus verkeerende, waarbij nog geen coitus in het betreffende seizoen heeft plaats gehad.

1. Kunstmatige inseminatie lege artis uitgevoerd met onverdund goed sperma.

Bij de dusdanig behandelde dieren is de bevruchting verricht met onverdund zeer krachtig beweeglijk sperma met een goede concentratie, dat niet langer dan 3 uur buiten het lichaam is geweest. Hiervan werd $\frac{1}{2}$ —1 c.c. in de cervix gebracht, zonder dat iets terug liep in de vagina of, dat het te ver werd doorgespoten in den uterus. De inseminatie geschiedde tijdens de volle bronst. Als dieren werden gekozen

alle voorkomende gevallen van jaargang 1936 en 1937, die het betreffende seizoen niet eerder werden gestierd en waarbij klinisch geen afwijkingen waren vast te stellen. Ook de mogelijkheid een dier met een of andere afwijking hierbij in te deelen is vermeden, door koeien, die geleden hadden aan *retentio secundinarum*, *prolapsus uteri*, *prolapsus vaginae*, die hadden geaborteerd, die eenigerlei anatomische afwijking vertoonden, of die behoorden tot bedrijven, waar endemische steriliteit berustende op infectieuzen grondslag heerschte, in een andere groep te plaatsen.

Het resultaat van de bevruchting is vastgesteld door een enquête, gehouden, nadat de dieren in vergevorderd stadium van drachtigheid verkeerden of reeds geworpen hadden.

Waar daartoe aanleiding bestond, heb ik ter contrôle van de bevindingen in een enkele rubriek de waarschijnlijkheidsberekening toegepast.

In andere rubrieken bleek dit echter door de sprekende uitkomsten niet noodig.

De 199 in deze rubriek samengebrachte dieren kunnen nog worden onderverdeeld in:

1a. Dieren, welke eerder noch kunstmatig, noch natuurlijk werden geïnsemineerd.

152 inseminaties vonden plaats; hiervan gaven 130 bevruchting, d. i. 85,52 %.

22 dieren werden niet gravide. Van dit aantal kan nog het volgende worden vermeld:

1e. 10 dieren werden bij den eerstvolgenden oestrus op dezelfde wijze behandeld, 5 werden drachtig. Van de vijf niet drachtig geworden koeien werd één voor de derde maal op dezelfde wijze geïnsemineerd en werd drachtig. Twee werden niet weer behandeld en twee op een andere manier.

2e. 7 dieren werden op een andere manier behandeld. Vier hiervan werden gravide.

3e. 5 dieren werden niet weer behandeld.

1b. Dieren, die reeds eerder op een andere wijze kunstmatig geïnsemineerd en niet drachtig geworden waren, terwijl bij de nu plaats vindende inseminatie geen afwijkingen aan het geslachtsapparaat werden gevonden.

47 inseminaties vonden plaats; hiervan gaven 43 bevruchting, d. i. 91,5 %.

4 dieren werden na deze inseminatie niet gravide. Van dit aantal kan nog het volgende worden vermeld:

1e. één dier werd op dezelfde wijze behandeld en werd drachtig.

2e. twee dieren werden op een andere wijze behandeld, beide zonder resultaat.

3e. één dier werd niet weer behandeld.

Het bevruchtingspercentage van de geheele rubriek is 86,93 %.

De bevindingen zijn schematisch in de hieronder volgende tabel weergegeven.

TABEL I.	Aantal inseminaties	Positief	Negatief	Bevruchtingspercentage
Normale dieren; in den oestrus; onverdund goed sperma; niet eerder gestierd of geïnsemineerd.	152	130	22	82,52%
Als boven; niet gestierd, doch wel eerder geïnsemineerd.	47	43	4	91,5%
Totaal	199	173	26	86,93%

Zooals deze rubriek aangeeft zijn de gevallen nog gesplitst in dieren, die noch gestierd, noch geïnsemineerd geweest waren en dieren, waarbij al eerder een negatieve inseminatie was toegepast, doch op een wijze, waarvan men mag aannemen, dat zij geenerlei invloed heeft uitgeoefend (b.v. een inseminatie met minder goed sperma of i. d.).

Om toch elke mogelijkheid van een foutieve uitkomst te omzeilen zijn de 47 dieren, waarbij dit is toegepast, afzonderlijk vermeld.

Zooals de berekening evenwel weergeeft, is er geen nadeelige invloed van uitgegaan.

Bij de beoordeeling van het percentage zij er nog eens op gewezen, dat deze inseminaties hebben plaats gevonden onder de meest gunstige omstandigheden.

Conclusie: De kunstmatige inseminatie van volkomen normale koeien met onverdund sperma van groote activiteit geeft een bevruchtingspercentage, dat alleszins bevredigend is.

2. Kunstmatige inseminatie lege artis uitgevoerd met verdund goed sperma.

Als verdunningsvloeistof werd steeds genomen G.P.C.₃, die druppelsgewijs zoo kort mogelijk vóór de inseminatie werd toegevoegd. De verdunning was geheel willekeurig genomen al naar gelang de behoefte, die er op het moment bestond. Het sperma was niet ouder dan 3 uur; de vrouwelijke dieren werden gekozen als in de voorgaande rubriek.

57 inseminaties vonden plaats; hiervan gaven 51 bevruchting, d. i. 89,58 %.

Ze zijn naar den graad van verdunningen als volgt te rangschikken:

26 met een verdunning van 1—1, waarvan 23 bevrucht.

8	„	„	„	„	1—2	„	8	„
4	„	„	„	„	1—2½	„	4	„
14	„	„	„	„	1—3	„	11	„
3	„	„	„	„	1—4	„	3	„
2	„	„	„	„	1—5	„	2	„

6 dieren werden niet gravide. Van dit aantal kan nog het volgende worden vermeld:

- 1e. 4 dieren werden bij den eerstvolgenden oestrus op een andere manier behandeld en werden drachtig;
- 2e. één dier kwam terug na 42 dagen; dit had een catarrhale endometritis;
- 3e. één dier kwam niet weer in behandeling.

In deze 57 gevallen zijn 10 dieren begrepen, die reeds eerder op een andere wijze kunstmatig geïnsemineerd en niet drachtig geworden waren, terwijl bij de nu plaats vindende inseminatie geen afwijkingen aan het geslachtsapparaat werden gevonden. Eén dier hiervan werd niet drachtig. Zij hadden dus geen invloed op het bevruchtingspercentage.

TABEL II.	Aantal inseminaties	Positief	Negatief	Bevruchtingspercentage
Normale dieren; niet gestierd; verdund goed sperma.	57	51	6	89.58%

De reeds vroeger beschreven waarnemingen van anderen, dat de verdunningsvloeistoffen een activeerende werking uitoefenen en de spermieën vlugger doen afsterven, komen met de mijne overeen. Wanneer men mag aannemen, dat een betere beweging een grootere bevruchtungskans zal garandeeren, dan zal die verdunning aanbeveling verdienen, vooral bij minder actief sperma. Deze verdunning zal echter dienen te geschieden kort voor de inseminatie, hetgeen bij mijn experimenten steeds gebeurde. Voor de practische uitvoering van een omvangrijke kunstmatige bevruchting is de verdunning van het sperma een belangrijke kwestie, daar hierdoor het aantal inseminaties per ejaculaat aanmerkelijk kan worden uitgebreid.

Conclusie: Kunstmatige inseminatie met verdund sperma (hoogstens 1 : 5) d.m.v. de samengestelde verdunningsvloeistof G.P.C.₃, geeft geen lager bevruchtingspercentage, dan met onverdund sperma, mits het sperma van goede kwaliteit is.

3. Kunstmatige inseminatie, waarbij een gedeelte van het sperma terugvloeit in de vagina.

Het sperma was steeds van goede kwaliteit en werd verdund of onverdund gebruikt. De vrouwelijke dieren waren als in voorgaande groepen.

Gewoonlijk werd het ingebrachte sperma geheel door de cervix opgenomen. Af en toe liep een gedeelte terug in de vagina. Dit gebeurde bij 33 gevallen; hiervan gaven 29 bevruchtungen, d. i. 88 %.

4 dieren werden niet gravide; hiervan kan worden vermeld, dat ze allen bij een volgenden oestrus op een andere wijze behandeld en dragend werden.

Onder de 33 dieren waren er 3 reeds eerder op een andere wijze kunstmatig geïnsemineerd en werden toen niet drachtig. Bij de inseminatie op deze wijze werden zij alle drie gravide, zoodat zij geen invloed hadden op het percentage van deze rubriek.

TABEL III.	Aantal bevruchtungen	Positief	Negatief	Bevruchtingspercentage
Normale dieren; goed sperma; een gedeelte van het sperma vloeit terug in de vagina.	33	29	4	88%

Het was noodzakelijk in deze richting een onderzoek in te stellen, omdat het meermalen voorkomt, dat bij snel werken, bij onrustige dieren, bij onvoldoende fixatie der dieren of bij een rijkelijke slijmafscheiding, niet al het sperma in de cervix

wordt gedeponeerd. Nadeelen zijn hierbij niet gebleken. Dit kon ook vermoed worden. Wordt slechts een gedeelte van het onverdunde sperma in de cervix gedeponeerd, dan krijgt men daar evenveel sperma, als in de gevallen, dat verdund sperma werd ingebracht. Uit het hier onder A. 2 besprokene is gebleken, dat de bevruchtingen door verdunning tot zekeren graad niet beïnvloed wordt. In die gevallen, dat verdund sperma (hoogstens 1 : 5) nog gedeeltelijk terugvloeide, mocht men vreezen, dat het resterende gedeelte te weinig spermatozoiden zou bevatten om bevruchting nog mogelijk te maken. Deze vrees werd niet bewaarheid.

Conclusie: Gedeeltelijke terugvloeïing van sperma uit de cervix in de vagina beïnvloedt het aantal bevruchtingen niet.

4. **Kunstmatige inseminatie, waarbij het sperma geheel of gedeeltelijk in den uterus wordt gedeponeerd.**

Het sperma was al of niet verdund en was van goede kwaliteit; de vrouwelijke dieren verkeerden in volle bronst.

No. 53	sperma gedeeltelijk in den uterus	pos.
361	" " " " "	"
576 ²	" " " " "	"
609	" " " " "	"
705	" " " " "	"
19	sperma geheel in den uterus	neg. (63 dagen)
265 ¹	" " " " "	neg. (28 dagen)
442 ¹	" " " " "	neg.
591 ¹	" " " " "	neg.
605	" " " " "	pos.
619 ¹	" " " " "	neg.
638	" " " " "	pos.

677	sperma	geheel	in	den	uterus	neg.
690	"	"	"	"	"	pos.
731	"	"	"	"	"	pos.

Deze rubriek is niet groot, hetgeen zijn oorzaak hierin vindt, dat zooveel mogelijk getracht is de inseminatie in de cervix te doen plaats vinden. Een enkele maal ging de canule door de cervix heen, waardoor intrauterine bevruchting werd toegepast. In sommige gevallen bleef een gedeelte van het sperma in de cervix achter.

15 inseminaties vonden plaats, waartoe behooren:

- a. 5 inseminaties, waarbij een gedeelte in de cervix achter bleef. Alle 5 gaven bevruchting, d. i. 100 %.
- b. 10 inseminaties, waarbij al het sperma in den uterus werd gedeponeed; hiervan gaven 4 bevruchting, d. i. 40 %.

Van de 6 dieren, die na deze inseminatie niet gravide werden, kan nog het volgende worden vermeld:

- 1e. 4 dieren werden tijdens een volgenden oestrus op een andere manier behandeld en werden alle drachtig.
- 2e. 2 dieren werden niet weer behandeld.

* Ter verdere oriëntering diene, dat in de tabellen met de geregistreeerde nummeringen de dieren, die niet bij de eerste inseminatie dragend werden en bij een volgende bronstperiode weer in behandeling kwamen, met 1 gemerkt zijn; bij een tweede inseminatie met een 2, bij een eventueele derde met een 3.

De diverse inseminaties zijn ondergebracht in de rubrieken, waarin zich soortgelijke gevallen bevinden.

TABEL IV.	Aantal inseminaties	Positief	Negatief	Bevruchtingspercentage
Sperma gedeeltelijk in den uterus.	5	5	0	100 ^o / _o
Sperma geheel in den uterus	10	4	6	40 ^o / _o

Deze rubriek is te klein, om aan een eventueele conclusie groote waarde te hechten, doch het resultaat bij de intrauterine inseminatie is van dien aard, dat wij het vermoeden mogen uitspreken, dat dit een nadeeligen invloed heeft op het bevruchtingspercentage.

De verklaring van dezen nadeeligen invloed kan zijn, dat de cervix een speciale rol speelt bij het bevruchtingsproces, hetzij door een reinigende werking op het sperma, hetzij door een vitaliseerende werking op de spermatozoiden uit te oefenen. De 5 beschreven gevallen, waarbij een deel in de cervix achter bleef en waarbij bevruchting werd verkregen, gaven aanleiding tot deze veronderstelling.

Echter komt ook de vraag naar voren of misschien een grootere hoeveelheid sperma in den uterus werkt als een corpus alienum en als zoodanig er zoo gauw mogelijk uitgedreven wordt.

Conclusie: Intrauterine inseminatie schijnt een nadeeligen invloed te hebben op de bevruchting.

Blijft een gedeelte van het sperma in de cervix achter, dan schijnt die invloed niet te bestaan.

5. **Kunstmatige inseminatie, waarbij alle sperma in de vagina wordt gedeponeerd.**

Het komt een enkele maal voor, dat tengevolge van een slechte verlichting en vooral tengevolge van de onrust van

sommige jonge dieren (primipara), het niet mogelijk is het zaad in de cervix te brengen. Het komt dan geheel in de vagina terecht. Dit gebeurde in de volgende gevallen:

No. 162	primipara	zeer onrustig	negatief.
„ 168	„	„	negatief.
„ 310 ¹	multipara	„	negatief.
„ 342 ¹	primipara	„	negatief.
„ 425 ¹	„	„	negatief.
„ 567 ¹	„	„	negatief.
„ 678	multipara	slechte verlichting	positief.
„ 713	primipara	zeer onrustig	negatief.
„ 818	„	„	negatief.

9 inseminaties vonden op deze wijze plaats; hiervan gaf 1 bevruchting; d. i. 11,1 %.

8 dieren werden niet gravide. Hiervan kan het volgende worden vermeld:

1e. 4 dieren werden in een volgenden oestrus op een andere manier behandeld en drie werden drachtig.

2e. 4 dieren werden niet meer behandeld.

TABEL V.	Aantal inseminaties	Positief	Negatief	Bevruchttingspercentage
Alle sperma is in de vagina gedeponeed	9	1	8	11,1%

Dit staatje spreekt voor zichzelf. Doorgaans is het wel mogelijk, zelfs bij zeer onrustige dieren, om nog een deel van het sperma in de cervix te brengen. Wanneer dit niet gelukt, dan wordt het verspreid over den ventralen wand van de vagina. De hoeveelheid ingespoten sperma zal dan misschien te klein zijn om bevruchting te geven. De vaginale inseminatie, zoo die hier bedoeld wordt, kan niet vergeleken worden met de normale dekking, daar bij de laatste het sperma met

meer kracht in het cavum vaginae wordt gespoten en meer spermatozoiden worden ingebracht.

Conclusie: Kunstmatige inseminatie, waarbij alle sperma in de vagina wordt gedeponereerd, dient te worden vermeden, omdat bevruchting vrijwel uitblijft.

B. Kunstmatige inseminatie bij koeien, die klinisch niet meer bronstig zijn.

Hier werden weer dieren genomen, die nog niet eerder gestierd waren. Voor de inseminatie werd sperma van goede kwaliteit gebruikt. Dit werd al of niet verdund. De bevruchttingspercentages van rubriek A₁ en A₂ hebben uitgewezen, dat de mate van verdunning, die ik heb toegepast, geen nadeeligen invloed heeft op de bevruchtingen, zoodat deze beide manieren van inseminatie als gelijkwaardig kunnen worden beschouwd.

Voor de practische uitvoering der kunstmatige bevruchting is het van groot belang te weten of een dier nog met succes te behandelen is, als de uiterlijke tochtigheidsverschijnselen reeds geweken zijn. Het komt nl. meermalen voor, dat men niet in de gelegenheid is, de dieren op den dag der bronst te insemineren, doch genoodzaakt is tot den volgenden dag te wachten. Ook is het belangrijk te weten of de inseminaties op een bepaald gedeelte van den dag verricht zouden kunnen worden of, dat het noodzakelijk is, in verband met den korten tochtigheidsduur, in twee perioden de behandeling in te stellen.

Om hierin een inzicht te krijgen, heb ik bij dieren, waarbij het begin der bronst meerdere uren geleden was opgetreden, het tijdstip nauwkeurig opgenomen, waarop de eerste tochtigheidsverschijnselen waren waargenomen.

Daar mij opviel, dat bij dieren, die langeren tijd geleden de eerste bronstverschijnselen hadden vertoond, een verminderde slijmafscheiding was waar te nemen, werd de hoeveelheid slijm, die bij de inseminatie aanwezig was, eveneens geregistreerd. Deze waarneming geschiedde op het oog en werd genoteerd als: wel slijm (normaal), weinig slijm (verminderde hoeveelheid), iets slijm (nog minder), bijna geen slijm en geen slijm (de cervix vrijwel droog).

Hieronder volgen in tabel VI de verschillende gevallen.

TABEL VI.

No.	Aantal uren tusschen de eerste bronst-verschijnselen en de inseminatie	Slijmafscheiding	Resultaat der bevruchting
169	16	geen slijm	neg.
207	16	wel slijm	pos.
250 ¹	18	wel slijm	neg.
306 ¹	20	geen slijm	neg.
311 ¹	20	geen slijm	neg.
318	16	iets slijm	pos.
349 ¹	24	bijna geen slijm	neg.
356	16	iets slijm	pos.
365 ²	16	wel slijm	pos.
373	16	wel slijm	pos.
375 ¹	18	geen slijm	neg.
381 ²	16	wel slijm	pos.
393 ¹	20	iets slijm	neg.
398	16	wel slijm	pos.
403	14	wel slijm	pos.
413	16	wel slijm	pos.
415	16	iets slijm	pos.
447	20	iets slijm	pos.
457	20	iets slijm	pos.
461	16	iets slijm	pos.
467 ²	20	iets slijm	pos.
553	14	iets slijm	pos.
554	18	geen slijm	neg.
570	18	weinig slijm	pos.
575 ¹	20	geen slijm	neg.
593	14	wel slijm	pos.
612	20	iets slijm	pos.
647	14	iets slijm	pos.
671	20	iets slijm	pos.
745 ²	16	weinig slijm	pos.
749 ¹	16	iets slijm	neg.
750 ¹	20	geen slijm	neg.
* 846	20	wel slijm	pos.
847	20	iets slijm	pos.
848	24	weinig slijm	neg.
849	24	iets slijm	pos.
850	24	geen slijm	neg.
851	22	wel slijm	pos.
852	22	geen slijm	neg.
853	20	wel slijm	pos.
854	20	iets slijm	pos.
855	20	wel slijm	pos.
856	14	wel slijm	pos.
857	20	wel slijm	pos.
858	24	iets slijm	pos.
859	28	iets slijm	pos.
860	16	wel slijm	neg.

* De nos. 846 tot en met 860 zijn behandeld in 1938.

Bij bovenstaande groep van 47 dieren waren de uiterlijke verschijnselen van de bronst niet meer merkbaar en het zou bezwaarlijk, meestal zelfs onmogelijk geweest zijn, de normale paring te doen plaats vinden.

Uit deze groep kan het volgende worden vermeld:

- 1e. Bij 16 dieren was een normale slijmafscheiding waar te nemen. Hiervan waren er drie, die voor 14 uur de eerste tochtigheidsverschijnselen hadden vertoond, zeven voor 16 uur, één voor 18 uur, vier voor 20 uur en één voor 22 uur.
14 werden gravide; twee werden niet drachtig; de bronst was hierbij resp. 16 en 18 uur voor de inseminatie begonnen.
- 2e. Bij drie dieren was de slijmafscheiding iets minder (weinig slijm). De bronst was resp. voor 16, 18 en 24 uur begonnen. De laatste werd niet drachtig, de twee andere wel.
- 3e. Bij 18 dieren was de slijmafscheiding nog geringer (iets slijm). Hiervan waren er 2, die voor 14 uur de eerste tochtigheidsverschijnselen hadden vertoond, 5 voor 16 uur, 8 voor 20 uur, 2 voor 24 uur en 1 voor 28 uur.
Er werden 16 dieren dragend; twee, waarbij resp. de bronst 16 en 20 uur geleden was aangevangen, werden niet drachtig.
- 4e. Bij 1 dier was nog een zeer geringe afscheiding (bijna geen slijm). De tochtigheid was 24 uur voor de inseminatie aangevangen; het dier werd niet drachtig.
- 5e. 9 dieren vertoonden een droge cervix. Bij 1 dier was de bronst 16 uur voor de inseminatie begonnen, bij 2 dieren 18 uur, bij 4 dieren 20 uur, bij 1 dier 22 uur en bij 1 dier 24 uur.
Geen der dieren gaf bevruchting.

Beschouwen wij slechts den tijd, verlopen tusschen de

eerste bronstverschijnselen en de inseminatie en de verkregen bevruchtigen, dan kunnen we dit als volgt weergeven.

5 dieren van 14 uur. Hiervan gaven	5 dieren bevruchting.
14 dieren „ 16 „ „	gaven 11 dieren „
4 dieren „ 18 „ „	gaf 1 dier „
16 dieren „ 20 „ „	gaven 11 dieren „
2 dieren „ 22 „ „	gaf 1 dier „
5 dieren „ 24 „ „	gaven 2 dieren „
1 dier „ 28 „ „	gaf 1 dier „

Bij deze 47 gevallen bevonden zich 4 dieren, waarbij eerder een kunstmatige inseminatie toegepast was op een andere manier, doch drachtigheid was uitgebleven. Nu werden zij alle bevrucht, zoodat zij het eindresultaat niet beïnvloeden.

In de hieronder volgende tabel VII worden bovenstaande gegevens en de verkregen resultaten vermeld.

TABEL VII.

Aantal dieren	Tijd na de eerste bronstverschijnselen	Slijm afscheiding	Resultaat		Bevruchtigs percentage
			pos.	neg.	
3	14	normaal	3	—	87,5%
7	16	„	6	1	
1	18	„	—	1	
4	20	„	4	—	
1	22	„	1	—	
1	16	weinig	1	—	66,3%
1	18	„	1	—	
1	24	„	—	1	
2	14	iets	2	—	88,8%
5	16	„	4	1	
8	20	„	7	1	
2	24	„	2	—	
1	28	„	1	—	
1	24	bijna geen	—	1	0%
1	16	geen	—	1	0%
2	18	„	—	2	
4	20	„	—	4	
1	22	„	—	1	
1	24	„	—	1	

Bij een nadere bestudeering van de gegevens in deze rubriek valt ons op, dat bij het ééne dier de slijmafscheiding aanmerkelijk eerder ophoudt, dan bij het andere; dit was het eerst merkbaar 16 uur na het optreden van de bronst.

Het geval, waarbij na 28 uur nog iets slijm aanwezig was, dient als een uitzondering te worden aangemerkt. In de practijk zal men niet langer dienen te wachten, dan 20 uur om geen teleurstelling te ondervinden.

Conclusie: Kunstmatige inseminatie bij koeien, die klinisch niet meer bronstig zijn, is mogelijk, mits nog een geringe hoeveelheid slijm aanwezig is. In den regel zal dit nog het geval zijn, 16 uur na het eerste optreden van de bronst.

C. Kunstmatige inseminatie bij koeien in den oestrus verkeerende, met sperma van verschillende hoedanigheid.

Zooals eerder is gemeld, heb ik speciale aandacht besteed aan het verband, bestaande tusschen de wolkenvorming van het sperma (beschreven op Blz. 52) en het bevruchtigingspercentage. Met de beweging wordt in de literatuur in den regel bedoeld de lineaire beweging van de individueele cel. Het leek mij van belang na te gaan of er overeenkomst bestaat tusschen de bevruchting en de intensiteit van de massabeweging der spermatozoiden, welke laatste zich openbaart in een meer of mindere actieve wolkenvorming.

In groep C. zijn alleen vrouwelijke dieren opgenomen als in groep A. De inseminaties zijn naar de goede of minder goede wolkenvorming van het sperma onderverdeeld in 4 rubrieken, n.l. de rubriek met goede (++++), met weinig (+++), met iets (++) en met geen (+) wolkenvorming. De wolkenvorming werd bij het *onverdunde* sperma beoordeeld vlak vóór de inseminatie. De inseminatie geschiedde zoowel met verdund als onverdund sperma en werd verricht bij koeien in volle bronst verkeerende.

1. **Sperma met goede wolkenvorming.** (+ + + +)

Bij de behandeling met goed wolkenvormend sperma was de ouderdom van het zaad niet steeds dezelfde.

Gedeeltelijk vonden de bevruchtingen plaats met sperma, dat hoogstens 3 uur oud was en gedeeltelijk met sperma dat ouder was dan 3 uur. Ook werd wederom $\frac{1}{2}$ —1 c.c. verdund of onverdund sperma in de cervix gebracht.

1 a. Een groot gedeelte van de dieren uit groep A werd geïnsemineerd met sperma, dat aan bovenvermelden eisch voldeed. Het sperma was niet ouder dan 3 uur.

150 inseminaties vonden aldus plaats met een bevruchtigingspercentage van 85,33 %.

1 b. 56 runderen werden geïnsemineerd met sperma, dat goede wolkenvorming vertoonde en reeds ouder was dan 3 uur; het varieerde in leeftijd van 4—36 uur. Hiervan gaven 46 bevruchtingen, d. i. 82 %.

10 dieren werden niet gravide. Hiervan kan het volgende worden vermeld:

1e. 6 dieren werden bij een volgende behandeling drachtig.

2e. 2 dieren werden in een volgende bronst normaal gestierd en drachtig.

3e. 2 dieren werden bij een volgende inseminatie niet drachtig.

TABEL VIII.

Ouderdom van het goede wolkenvormend sperma	Aantal inseminaties	Positief	Negatief	Bevruchtigingspercentage
3 uur en minder	150	128	22	85,33%
Ouder dan 3 uur	56	46	10	82%
Totaal	206	174	32	84,46%

Willen wij in deze rubriek een nauwkeuriger indeeling maken volgens den ouderdom van het sperma, dan dient er bij de beoordeeling rekening mede te worden gehouden, dat niet steeds de bewaring van het sperma op dezelfde wijze heeft plaats gevonden, terwijl bovendien met de weersomstandigheden geen rekening is gehouden.

Onder de bovengenoemde 56 gevallen was de ouderdom van het sperma bij:

2 dieren	4 uur.	Hiervan	gaven	2 dieren	bevruchting.
2 dieren	6 "	"	gaf	1 dier	"
1 dier	8 "	"	gaf	1 dier	"
21 dieren	10 "	"	gaven	16 dieren	"
1 dier	12 "	"	gaf	1 dier	"
7 dieren	14 "	"	gaven	5 dieren	"
1 dier	15 "	"	gaf	1 dier	"
9 dieren	16 "	"	gaven	9 dieren	"
1 dier	17 "	"	gaf	1 dier	"
2 dieren	18 "	"	gaven	2 dieren	"
2 dieren	20 "	"	gaven	2 dieren	"
6 dieren	24 "	"	gaven	4 dieren	"
1 dier	36 "	"	gaf	1 dier	"

Om bovengenoemde redenen is uit dit tabelletje noch een berekening, noch een conclusie te trekken, doch het illustreert, dat bij een ouderdom van het sperma van 24 uur en zelfs meer, nog een actieve wolkenvorming mogelijk is, met daarbij gepaard gaande bevruchting.

K n a u s, L a g e r l ö f e. a. wijzen er op, dat „Bewegungsfähigkeit" niet steeds identiek behoeft te zijn met „Befruchtungsfähigkeit". In welk percentage zij dat hebben waargenomen, staat niet vermeld. Bij mijn bevruchtingen heb ik sperma gebruikt van vele verschillende stieren (50 à 60) en bij geen van de ejaculaten is mij gebleken, dat bij een goede wolkenvorming, die tenslotte identiek is met een krachtige lineaire beweging, niet een goed bevruchtungsvermogen aanwezig was.

Indien de waarnemingen van K n a u s en L a g e r l ö f juist zijn, dan is het percentage van de gevallen, dat een

goede beweging en een goede bevruchting elkaar niet dekken, niet groot.

Bij het voorkomen van een zeker percentage onrijpe spermatozoiden is mij opgevallen, dat toch een goede wolkenvorming plaats heeft. Ik ben niet in de gelegenheid geweest bevruchtingen met onrijp sperma te verrichten, doch vermoed, dat een ejaculaat met goede wolkenvorming, hetwelk een zeker percentage onrijpe spermatozoiden bevat, geen „Befruchtungsfähigkeit” zal bezitten. Volgens Lagerlöf mag er maximaal 3 % onrijpe spermien in een ejaculaat aanwezig zijn, om nog een goede kans op bevruchting te hebben.

De bestudeering van het sperma met behulp van een microscopcouveuse, geschiedde door mij steeds bij 30 tot 32° C. Bij een hogere temperatuur krijgt men misschien tijdelijk wel een grootere activiteit, doch wegens het snellere opdrogen van den spermadruppel wordt de beweging vlugger stilgelegd. Bij de door mij gebruikte temperatuur kwam de wolkenvorming zeer voldoende naar voren.

Conclusie: Sperma, waarbij een goede wolkenvorming valt waar te nemen, heeft zeer veel kans bevruchtend sperma te zijn, ook al is het meerdere uren in vitro bewaard.

2. Sperma met weinig wolkenvorming (+ + +)

Bij de dieren in deze rubriek was nog geen inseminatie toegepast. Het sperma was van verschillenden ouderdom tot 36 uren toe. In den regel was de minder goede wolkenvorming toe te schrijven aan een minder goede conditie van den stier, ongunstige weersomstandigheden of verontreinigde instrumenten. Het sperma werd al of niet verdund gebruikt.

47 inseminaties vonden met dit sperma plaats; hiervan gaven 26 bevruchting, d. i. 55,3 %.

21 dieren werden niet gravide. Hiervan kan nog het volgende worden vermeld:

- 1e. 15 dieren werden bij een volgenden oestrus op een andere manier behandeld, waarna 12 dragend werden; van één is de uitslag onbekend gebleven.
- 2e. 6 dieren werden niet weer behandeld.

TABEL IX.	Aantal inseminaties	Positief	Negatief	Bevruchttingspercentage
Sperma met weinig wolkenvorming.	47	26	21	55,3%

Conclusie: Kunstmatige inseminatie met sperma, met een minder goede wolkenvorming, zoowel bij pas verzameld sperma, als bij sperma, dat meerdere uren oud is, geeft een verminderd bevruchttingspercentage.

3. Sperma met iets wolkenvorming. (+ +)

Weer zijn in deze groep dieren gerangschikt, waarbij geen inseminatie had plaats gevonden. De inseminatie geschiedde in volle bronst met verdund of onverdund sperma, waarbij de wolkenvorming bijna niet optrad. De ouderdom van het sperma liep tot 36 uur.

20 inseminaties vonden op deze manier plaats; hiervan gaven 5 bevruchting, d. i. 25%.

15 dieren werden niet gravide. Hiervan kan nog worden vermeld:

- 1e. 11 dieren werden bij een volgenden oestrus op een andere manier behandeld. Hiervan werden 5 na de eerste behandeling dragend en drie na nog een tweede inseminatie. Van één bleef de uitslag onbekend.
- 2e. 4 dieren werden niet weer behandeld.

TABEL X.	Aantal inseminaties	Positief	Negatief	Bevruchtingspercentage
Sperma met iets wolkenvorming.	20	5	15	25 ⁰ / ₀

Wanneer bij pas gewonnen sperma de wolkenvorming zoo goed als niet optreedt bij een temperatuur van ongeveer 30° C., dan is mij herhaaldelijk gebleken, dat een zeer groot percentage van de spermiën pathologisch van bouw was. Ik ben in de gelegenheid geweest een stier onder geregelde contrôle te hebben, waarbij het bevruchtingspercentage zeer verminderd was. Met het sperma van dezen stier zijn er bevruchtungen tot stand gekomen, terwijl het aantal pathologische cellen ongeveer 40 % was.

L a g e r l ö f stelt als grens voor goed bevruchtend sperma de aanwezigheid van hoogstens 20 % abnormaal gevormde spermatozoiden.

Deze waarneming is een zeer belangrijke in verband met de juridische beoordeeling bij koopvernietiging, op grond van steriliteit bij stieren. De gangbare meening is, wanneer een stier bij den verkooper den laatsten tijd nog één of meer dieren heeft bevrucht, dat daarmee elke actie tot koopvernietiging gecoupeerd kan worden. In verband met mijn waarnemingen mag dit geenszins het geval zijn. Wanneer tijdens of kort na den koop uit het spermaonderzoek blijkt, dat dit van minderwaardige kwaliteit is, zoodat men een verminderde vruchtbaarheid kan aannemen, is dit volgens mijn meening als koopvernietiging aan te merken. Hoewel misschien een genezing zal plaats vinden, komt het mogelijk in eenzelfde aantal gevallen voor, dat geen verbetering meer optreedt, zelfs, dat het proces verergert. De moeilijkheid is de prognose te stellen, omdat men in den regel de oorzaak niet kan opsporen. Ligt een of andere met koorts verloopende ziekte aan het proces ten grondslag, dan dient men in elk geval voorzichtig te zijn met de prognose.

Een regelmatig spermaonderzoek bij den koop is van evenveel belang als b.v. het onderzoek op tuberculose. In mijn praktijkgebied wordt dit zooveel mogelijk gedaan tot groote voldoening van de veehouders. In gevallen, waarbij minder goed sperma wordt geëjaculeerd, ondergaat de stier een herhaald onderzoek, alvorens een uitspraak wordt gedaan. Natuurlijk gaat dit dan gepaard met klinisch onderzoek van het geheele geslachtsapparaat.

Conclusie: Kunstmatige inseminatie met sperma, waarbij wolkenvorming bijna niet meer is waar te nemen, geeft een aanmerkelijk verminderd bevruchtingspercentage.

4. Sperma zonder wolkenvorming. (+)

De inseminatie geschiedde weer bij dieren, die noch geïnsemineerd, noch gestierd waren. De ouderdom van het sperma ging tot 36 uur. Er was geen wolkenvorming waar te nemen; wel was een deel van de spermatozoiden beweeglijk, doch zij verplaatsten zich niet.

19 inseminaties vonden op deze manier plaats; hiervan gaf één bevruchting, d. i. 5,3 %.

TABEL XI.	Aantal inseminaties	Positief	Negatief	Bevruchtingspercentage
Sperma zonder wolkenvorming.	19	1	18	5,3%

Het aantal inseminaties met dit sperma is niet zoo groot, dat een voldoende gemotiveerde conclusie uit deze rubriek getrokken mag worden. Toch is het feit, dat van 19 inseminaties slechts éénmaal een bevruchting tot stand is gekomen, wel zóó sprekend, dat het toeval geen rol speelt.

In de practijk is deze waarneming van groot belang, daar het ons steeds ontbroken heeft aan een grens, waartoe men zou durven gaan om een ejaculaat al dan niet bevruchtend te noemen. In dit gebied liggen nog vele voetangels en klemmen. Bij herhaling merk ik op, dat men niet eerder kan zeggen, dat een ejaculaat bevruchtend is, dan wanneer het ook inderdaad heeft bevrucht. Bovenstaande waarneming brengt ons toch iets verder, om snel een oordeel te vormen omtrent de „Befruchtungsfähigkeit” van het sperma.

Conclusie: Sperma, dat bij 30° C. geen wolkenvorming vertoont, dient voor de kunstmatige inseminatie niet te worden gebruikt en kan vrij zeker als niet bevruchtend sperma worden beschouwd.

Tenslotte geef ik in onderstaande tabel een overzicht van het aantal bevruchtelingen, dat met sperma met verschillende wolkenvorming werd verkregen.

TABEL XII.

Aantal inseminaties	Wolkenvorming van het sperma	Resultaat		Bevruchtingspercentage
		pos.	neg.	
206	++++	174	32	84,46 ^o / _o
47	+++	26	21	55,3 ^o / _o
20	++	5	15	25 ^o / _o
19	+	1	18	5,3 ^o / _o

D. Samenvatting en bespreking der onder A. B. en C. verkregen resultaten.

Ruim 650 bevruchtingsgevallen zijn beschreven, die al naar de wijze van bevruchten, in verschillende rubrieken zijn onderverdeeld. Deze zijn weer gegroepeerd in drie hoofdgroepen, A. B. en C.

Groep A. Bij volkomen normale koeien, die het betreffende seizoen niet eerder werden gestierd, zijn de bevruchtelingen verricht met sperma, dat niet ouder was dan 3 uur en dat

een goede beweeglijkheid vertoonde. De koeien waren in de volle bronst. De inseminatie werd op verschillende wijze uitgevoerd, n.l.:

- 1e. De inseminatie werd op volkomen normale wijze verricht, zoodat alle sperma opgenomen werd door de cervix. Het sperma werd onverdund gebruikt. Op deze wijze werden behandeld 199 dieren, waarvan na de eerste inseminatie 173 bevruchting gaven, d. i. 86,93 %.
- 2e. De inseminatie werd uitgevoerd onder dezelfde omstandigheden als voorgaande rubriek, met het verschil, dat nu het sperma vlak voor de inseminatie werd verdund tot een maximale verdunning van 5. Op deze wijze werden behandeld 57 dieren, waarbij na de eerste inseminatie 51 bevruchting gaven, d. i. 89,58 %.
- 3e. De omstandigheden, waaronder de inseminatie plaats vond, waren dezelfde, als bij de beide andere groepen, behalve, dat nu niet alle sperma in de cervix terecht kwam, maar dat een deel terugvloede in de vagina. Het sperma werd zoowel verdund als onverdund gebruikt. Op deze wijze werden behandeld 33 dieren, waarbij na de eerste inseminatie 29 bevruchting gaven, d. i. 88 %.
- 4e. Een tiental gevallen werd geïnsemineerd onder dezelfde omstandigheden als in de voorgaande groepen, echter met dit verschil, dat het sperma geheel in den uterus werd gedeponeed. Van die tien dieren gaven 4 na de eerste inseminatie bevruchting, d. i. 40 %.
5 dieren, waarbij bovendien nog een deel van het sperma in de cervix achter bleef, werden allen drachtig.
- 5e. Bij een negental dieren kwam het sperma in de vagina terecht. Deze afwijkende bevruchtingswijze was het gevolg van de groote onrust, die deze dieren tijdens de inseminatie vertoonden. Slechts één hiervan werd drachtig.

Groep B. Bij volkomen normale dieren, die het betreffende seizoen niet eerder waren gestierd, werden bevruchtungen verricht met sperma, dat niet ouder was dan 3 uur en dat een goede beweeglijkheid vertoonde. Het verschil met groep A. is, dat de dieren niet meer klinisch waarneembaar bronstig waren.

Naar de hoeveelheid aanwezige slijm werden 47 tot deze groep behorende dieren, onderverdeeld in:

- 16 met een normale slijmafscheiding; hiervan werden 14 drachtig.
- 3 met weinig slijmafscheiding; hiervan werden 2 drachtig.
- 18 met een geringe slijmafscheiding (iets slijm); 16 werden drachtig.
- 10 waarbij nagenoeg geen slijm meer aanwezig was; geen dier werd drachtig.

Groep C. Kunstmatige inseminatie bij koeien, in den oestrus verkeerende, met sperma van verschillende hoedanigheid. Voor de beoordeeling werd een globale vergelijking gemaakt in verband met de meer of mindere intensiteit van de wolkenvorming. De inseminatie geschiedde op de normale wijze, terwijl het sperma al of niet verdund werd. De verdunning werd genomen van 1—5.

Naar de wolkenvorming werd het materiaal verdeeld in:

- 1e. Sperma met een goede wolkenvorming. Hiermee werden 150 koeien behandeld, terwijl het sperma niet ouder was dan 3 uur. Van dit aantal gaven 128 na de eerste inseminatie bevruchting, d. i. 85,33 %.
56 runderen werden geïnsemineerd, waarbij het sperma varieerde in ouderdom van 4—36 uur, terwijl de wolkenvorming tijdens de inseminatie goed was. Hiervan gaven 46 na de eerste inseminatie bevruchting, d. i. 82 %.
- 2e. Sperma met weinig wolkenvorming. Van de 47 behandelde dieren werd bij 26 bevruchting verkregen, d. i. 55,3 %. De ouderdom van het sperma liep tot 36 uur.

- 3e. Sperma met iets wolkenvorming. Van de 20 inseminaties gaven er 5 bevruchting, d. i. 25 %.
- 4e. Sperma met geen wolkenvorming. De leeftijd van het sperma ging tot 36 uur. Van de 19 inseminaties gaf er slechts één bevruchting, d. i. 5,3 %.

Tenslotte zijn alle gegevens en de resultaten uit Hoofdstuk V, samengebracht in tabel XIII.

TABEL XIII.	Aantal bevruchtingen	Pos.	Neg.	Bevruchtingspercentage
A ¹ . Normale dieren; onverdund goed sperma.	199	173	26	86,93%
A ² . Normale dieren; verdund goed sperma.	57	51	6	89,58%
A ³ . Sperma vloeit gedeeltelijk terug in de vagina.	33	29	4	88%
A ⁴ . Sperma wordt geheel in den uterus gedeponerd	10	4	6	40%
A ⁵ . Sperma wordt geheel in de vagina gedeponerd.	9	1	8	11,1%
B ¹ . Bronstverschijnselen zijn geweken. Voldoende slijm in de cervix.	16	14	2	87,5%
B ² . Weinig slijm.	3	2	1	66,3%
B ³ . Iets slijm.	18	16	2	88,8%
B ⁴ . Geen slijm.	9	0	9	0%
C ¹ . Goede wolkenvorming.	206	174	32	84,46%
C ² . Weinig wolkenvorming.	47	26	21	55,3%
C ³ . Iets wolkenvorming.	20	5	15	25%
C ⁴ . Geen wolkenvorming.	19	1	18	5,3%

Uit het bovenstaande is af te leiden, dat practisch geen invloed wordt uitgeoefend op het bevruchtingspercentage, wanneer het sperma verdund of onverdund wordt gebruikt. De plaats, waar het sperma gedeponeed moet worden, is de cervix. Als een deel terugvloeit in de vagina, vormt dit geen bezwaar, doch wanneer de geheele hoeveelheid sperma in de vagina terecht komt, is het bevruchtingspercentage zeer gering. Ook wanneer alles in den uterus wordt gespoten, is de kans op een lager bevruchtingspercentage grooter.

Wanneer het begin van de tochtigheid meerdere uren voor de inseminatie is opgetreden, kan de bevruchting tot stand komen, indien nog een hoeveelheid slijm in de cervix aanwezig is. Is dat aantal uren 16 en minder, dan is een normale bevruchtungskans aanwezig. Waren de eerste tochtigheidsverschijnselen voor 20 uur aanwezig, dan wordt de kans op een droge cervix, dus op een negatief resultaat van de inseminatie, grooter. Toch is na 28 uur nog een inseminatie gelukt.

Wanneer het sperma bij $\pm 30^{\circ}$ C. een goede wolkenvorming vertoont, is de kans zeer groot, dat men te doen heeft met goed bevruchtend sperma, ook al is het meerdere uren oud. Is de wolkenvorming minder duidelijk, dan wordt het bevruchtingspercentage kleiner, terwijl sperma met zeer geringe of zonder wolkenvorming ongeschikt moet worden geacht voor de kunstmatige inseminatie, daar de bevruchtungskans zeer miniem is.

HOOFDSTUK VI.

KUNSTMATIGE INSEMINATIE BIJ ONVRUCHTBARE EN VAN ONVRUCHTBAARHEID VERDACHTE RUNDEREN.

LITERATUUR.

De bestrijding der onvruchtbaarheid onder de runderen heeft reeds tal van jaren de aandacht van vele onderzoekers getrokken.

Wanneer wij daarbij de abortus Bang infectie onder de runderen buiten beschouwing laten, heeft men de bestrijding der steriliteit bij den endemischen vorm in hoofdzaak gezocht in curatieve maatregelen.

Deze hebben in de practijk lang niet tot een bevredigende oplossing van het vraagstuk geleid en de laatste jaren worden stemmen gehoord, die er voor pleiten langs preventieven weg het doel te bereiken, m. a. w. men wil de verspreiding der smetstof voorkomen.

Voor al bij de bestrijding der steriliteit bij koeien, ten gevolge van trichomonas infectie, is deze op den voorgrond getreden. Uit mededeelingen van Küst e. a. is duidelijk gebleken, dat men de steriliteit ten gevolge van dit lijden, waarbij de overbrenging door den stier zoo'n voorname rol speelt, met succes kan bestrijden door kunstmatige inseminatie toe te passen.

Ook bij andere gevallen van steriliteit, waarbij men meer en meer de beteekenis gaat inzien, die de stier heeft voor de verspreiding, wordt de kunstmatige bevruchting naar voren gebracht.

Vele schrijvers wijzen er op, dat maatregelen genomen moeten worden, om een goeden fokstier voor besmetting te vrijwaren.

Allen zijn het er hierbij over eens, dat koeien, die oogen-schijnlijk gezond zijn, toch nog langen tijd het mannelijk dier kunnen infecteeren.

Diernhofer (6) schrijft hierover, dat steeds de verontrustende waarheid blijft bestaan, dat er geen zekerheid bestaat, dat een dier niet infectieus is en dat een kleine onachtzaamheid van den stierenhouder den nieuwen stier in korten tijd weer waardeloos kan maken. De zekerste wijze om de besmetting van den gezonden stier te verhinderen is, dat men hem niet met de bronstige koe in directe geslachtelijke aanraking laat komen, doch dat men de koe kunstmatig bevrucht.

Deze schrijver zegt verder, dat in gebieden, waar men moeilijk overgaat tot overheidsmaatregelen ter bestrijding van dekinfecties (trichomoniasis) en waar men die overheidsmaatregelen gemakkelijk saboteert, juist de kunstmatige bevruchting zich er voor leent, om de maatregelen goed te doen doorvoeren.

De dierenarts komt dan tevens in direct contact met de geïnfecteerde gebieden, waar de dieren de noodige behandeling moeten ondergaan. In vele streken zullen zoo de resultaten van een systematische steriliteitsbehandeling gunstig kunnen zijn.

Veel publicaties over de resultaten van de kunstmatige inseminatie in gevallen van steriliteit zijn niet bekend.

De meening van Richter (44) is, dat de kunstmatige inseminatie belangrijk genoeg is, om na te gaan, welke voordeelen deze methode biedt ter bestrijding der steriliteit. De fokkers staan er nog eenigszins afwijzend tegenover, zien hierin nog iets onnatuurlijks en dienen eerst overtuigd te worden van de bruikbaarheid. Volgens Richter zal de toekomst moeten bewijzen of de resultaten de nadeelen (moeite en kosten) zullen kunnen overtreffen.

Stolz (53) behandelde 52 steriliteitsgevallen en kreeg een resultaat van 50 %. Over den aard van de steriliteit vermeldt

hij niet veel positiefs. Richter behandelde 22 dieren, waarbij hij in 9 gevallen na de eerste inseminatie bevruchting verkreeg. Küst kreeg van 490 inseminaties 387 dragend of ongeveer 79%.

Daar de kunstmatige inseminatie zoo weinig is beproefd bij steriliteitsgevallen en geheel niet in bedrijven, waar de catarrhale endometritis min of meer endemisch voorkomt, heb ik gemeend goed te doen, na te gaan, in hoeverre het mogelijk is, de kunstmatige bevruchting dienstbaar te maken aan de meest voorkomende steriliteitsgevallen in ons land. Een verdere omschrijving volgt in de komende bladzijden.

EIGEN ONDERZOEK.

A. Kunstmatige inseminatie op bedrijven met endemische catarrhale endometritis.

Onderzoekt men in Friesland steriele runderen, dan kan men in zeer vele gevallen de verschijnselen van een endometritis constateeren. Opvallend is, dat het lijden zich heel vaak endemisch openbaart, soms enzoötisch. Omtrent de oorzaak van deze endometritiden bestaat nog lang geen overeenstemming. Albrechtsen (1) zoekt de oorzaak in een infectie van den uterus gedurende of na den laatsten partus. Ook anderen o.a. Hess (17) zijn dezelfde meening toegedaan. Velen hebben verband gezocht tusschen abortus Bang en endemisch optredende steriliteit. Het is niet te ontkennen, dat op stallen, waar besmetting met den abortusbacil van Bang heeft plaats gehad, veelvuldig steriliteit onder de dieren voorkomt, terwijl geen abortusbacillen in den uterus kunnen worden aangetoond. Daarnevens vindt men ook vele stallen, die niet geïnfecteerd zijn met abortus Bang en waarop toch uitgebreide steriliteit zich openbaart.

Hoe moet men zich nu de uitbreiding van de endemisch optredende steriliteit, berustende op een endometritis, op een stal verklaren. De infectie kan door direct contact van dier

op dier worden overgebracht, maar het is ook mogelijk, dat de ziekte door den stier wordt verspreid bij den coitus. Velen, en daaronder behooren o.a. ook Albrechtsen en Hess, achten steriliteit niet besmettelijk. Veenbaas (56) kan zich met dit standpunt niet vereenigen. Deze laatste nam waar, dat dieren, afkomstig uit een volkomen gezonden koppel vee, gebracht in een, waarin steriliteit veelvuldig voorkwam, ook minder vruchtbaar werden.

Mijns inziens speelt de overbrenging door den stier een veel belangrijker rol. Herhaaldelijk heb ik waargenomen, dat bij het optreden van endometritis in een bedrijf, gelegen tusschen andere, waar dit niet voorkomt, dit lijden zich ook op deze laatste openbaart, nadat de koeien gedekt waren door den stier, die op de eerste boerderij werd gebruikt. Op den modus van de infectie kom ik nader terug. Ik meen dan ook, dat men zonder bezwaar kan spreken van *infectieuze endometritis*.

Op grond van mijn opvatting, dat de stier bij den coitus het agens kan overbrengen, spreek ik van een *geïnfecteerden stier*, als die gebruikt is of wordt in bedrijven, waar de endemische endometritis heerscht.

Met andere onderzoekers ben ik van meening, dat de endometritis, optredende bij de endemische steriliteit van het rund, zich kan voordoen als:

a. *Endometritis chronica latenta*.

Deze is tusschen de bronsttijden niet te onderkennen. Dan is de cervix gesloten; er is geen slijm- of etterafscheiding, terwijl ook vaginaal of rectaal geen afwijking is vast te stellen. Tijdens de bronst vindt een verhoogde slijmsecretie plaats, in enkele gevallen vermengd met ettervlokjes of een melkachtige troebeling.

b. *Endometritis catarrhalis chronica*.

Tusschen de bronsttijden is de cervix niet geheel gesloten; er is dan een meer of mindere sterke slijmafscheiding aanwezig. Tijdens de bronst is er een verhoogde slijmsecretie,

terwijl rectaal vaak een asymmetrische uterus is vast te stellen.

De *diagnose* catarrhale endometritis is niet steeds gemakkelijk te stellen. De klinische symptomen zijn de volgende:

De uitwendige tochtigheidsverschijnselen zijn intensiever en duren langer dan gewoonlijk; de labiae zijn nu en dan iets gezwollen. Bij inwendige inspectie van de vagina en cervix blijkt de slijmafscheiding vaak aanmerkelijk vergroot, hetgeen veelal reeds uitwendig te zien is, doordat groote hoeveelheden slijm achter het dier liggen. De cervix is glad en glanzend, terwijl zij meermalen aanmerkelijk grooteren omvang heeft dan normaal; soms is de cervix bleek, meestal is zij iets te rood. Rectaal is mij van asymetrie van den uterus niet veel gebleken, daar die bij normale multiparae ook in den regel min of meer aanwezig is. Bij chronische gevallen van catarrhale endometritis kon ik af en toe waarnemen, dat tijdens de bronst geen Graafsch follikel aanwezig was.

Bij de kunstmatige bevruchting bij dieren met catarrhale endometritis bleek mij, dat het sperma zeer moeilijk in de cervix was te deponeren, omdat het direct over het aanwezige slijm heen gleeed en in de vagina terugvloeyde. Dit verschijnsel kan een aanwijzing te meer zijn om in twijfelachtige gevallen aan de aanwezigheid van een catarrhale endometritis te denken.

1. Kunstmatige inseminatie bij dieren, die reeds één of meermalen door een geïnfecteerden stier zijn gedekt.

Meermalen wordt de hulp van een practiseerenden dierenarts ingeroepen bij koeien, welke reeds eenige malen gedekt zijn, maar niet bevrucht werden. In den regel betreft het dieren met een catarrhale endometritis. Het klinisch onderzoek is vaak onbevredigend; naast gevallen, waarbij men duidelijk symptomen van een catarrhale endometritis kan vaststellen, komen er andere voor, waarbij men slechts door uitsluiting van overige afwijkingen, tot de diagnose endometritis chronica komt.

Bij onderstaande gevallen, waarbij ik de kunstmatige

bevruchting heb toegepast, waren, meer of minder duidelijk, de symptomen van de catarrhale endometritis aanwezig. Een enkele maakt hierop een uitzondering.

101 inseminaties vonden plaats in volle bronst; het sperma was van goede kwaliteit. Bij 13 volgde na een éénmalige behandeling bevruchting, d. i. 10,3 %.

Hiervan kan het volgende worden vermeld:

- 1e. 2 dieren waren geïnsemineerd 6 weken na het laatste contact met den stier. Bij 1 dier was dit 9 weken geleden.
- 2e. 5 dieren hadden een lugol behandeling met bepenseeling van vagina en cervix met jodiumtinctuur ondergaan. Dit geschiedde 6 weken voor de inseminatie.
- 3e. 5 dieren waren resp. 6, 8, 8, 9 en 12 weken dragend geweest en daarna één- of tweemaal overgeslagen.

88 dieren werden niet bij de eerste inseminatie dragend; hiervan kan het volgende worden vermeld:

- 1e. 36 dieren werden bij den eerstvolgenden oestrus weer geïnsemineerd. 5 hiervan werden dragend, waarvan op 2 een lugol behandeling en vaginadesinfectie met jodiumtinctuur was toegepast.
- 2e. 52 dieren werden den volgenden oestrus niet weer behandeld.

13 dieren ondergingen een derde inseminatie. 10 werden dragend, waarvan bij twee de uterus-cervix-vagina behandeling was toegepast en bij één een ovariaal cyste was verwijderd.

1 dier werd voor de vierde maal geïnsemineerd en werd dragend.

TABEL XIV.	Aantal inseminaties	Positief	Negatief	Bevruchttingspercentage
Dieren, die één of meer malen door een geïnfecteerden stier zijn gedekt.	101	13	88	10,3 ⁰ / ₀

Zoals te verwachten was, leverde de kunstmatige inseminatie bij koeien met een catarrhale endometritis weinig succes op. Het was opmerkelijk, dat onder de 13 dieren, die bij de eerste inseminatie drachtig werden, er 5 waren, die 6—12 weken dragend waren geweest en daarna één- of tweemaal wederom den oestrus hadden vertoond. Dit komt overeen met mijn waarnemingen, dat runderen, welke reeds enkele weken drachtig zijn geweest en dan opbreken, gemakkelijker bevrucht worden, dan dieren, die herhaalde malen elke drie weken den oestrus vertoonden.

In den regel waren de dieren al één of meer oestrusperioden overgeslagen, alvorens de kunstmatige bevruchting werd toegepast. Toch waren de beide eerste inseminaties gewoonlijk zonder succes en pas na de derde werd een behoorlijk percentage dragend. De meesten waren dan 3—4 maanden geleden voor het laatst bij den stier geweest. Ik meen hieruit te mogen afleiden, dat de natuurlijke genezing van de catarrhale endometritis vrij lang op zich laat wachten. Daar af en toe, hetzij reflectorisch, hetzij door het omhoog kruipen van het agens, de ovaria en het oviduct bij de infectie betrokken zijn, zal in die gevallen de natuurlijke genezing langer op zich laten wachten, zij het niet, dat die dan veelal uitgesloten is.

Met een medicamenteuze behandeling, kan de genezingsduur aanmerkelijk worden verkort. De methode *Albrechtse*n, al dan niet ondersteund door injecties met yatren-vaccin *Ehrhard* (7) en ovarium behandeling (*Hess*) (17) zal ongetwijfeld de genezing aanmerkelijk bevorderen. Mij is de gecombineerde methode *Solutio Lugoli* in den uterus, bepen-seeling van cervix en vagina met sterke jodiumtinctuur en

ovarium behandeling tijdens de bronst, de meest succesvolle therapie gebleken. In den regel kan 6 weken na de behandeling bevruchting worden verkregen. Gezien de uitbreiding van de infectie over vrijwel het geheele geslachtsapparaat, zal van een vaginabehandeling met capsules of pyoplaatjes weinig zijn te verwachten. Inderdaad komt dit met mijn ervaringen overeen.

Conclusie: Kunstmatige inseminatie bij dieren met een catarrhale endometritis heeft geen waarde. De natuurlijke genezing laat minstens 3—4 maanden op zich wachten.

Behandeling van het genitaalapparaat dient zoo spoedig mogelijk te worden ingesteld.

2. Kunstmatige inseminatie bij dieren, behorende bij bedrijven, waar de catarrhale endometritis endemisch voorkomt en waarbij de normale coitus niet heeft plaats gehad, met sperma van een niet geïnfecteerden stier.

De koeien behoorden tot dezelfde bedrijven als de voorgaande rubriek. Het sperma was van goede kwaliteit.

63 inseminaties vonden plaats; hiervan gaven 46 met een éénmalige behandeling bevruchting, d. i. 74,6 %.

17 dieren werden niet gravide. Van dit aantal kan het volgende worden vermeld:

- 1e. 11 dieren werden bij de eerstvolgende bronst weer geïnsemineerd, hiervan werden 8 dragend.
- 2e. 6 dieren werden niet weer behandeld.

Van de drie niet bevruchte dieren kan nog het volgende worden vermeld:

Bij één dier kon een catarrhale endometritis worden gediagnostiseerd; een ander werd later bevrucht na het verwijderen van een ovariaal cyste en van de derde kon de steriliteitsoorzaak niet worden vastgesteld.

TABEL XV.	Aantal insemina- ties	Positief	Negatief	Bevruch- tingsper- centage
Dieren van bedrijven met een catarrh. endom., die niet zijn gestierd. Inseminatie met sperma van een niet geïnf. stier.	63	46	17	74,6%

Vergelijken wij de beide laatste groepen, dan zien wij een zeer belangrijk verschil in het bevruchtingspercentage. Na een éénmalige behandeling werden er in deze groep 74,6 % dragend. Bestudeeren wij dit cijfer nader, dan kan worden geconstateerd, dat het percentage lager is, dan dat in de eerste rubrieken van hoofdstuk V. Er dient rekening gehouden te worden met het feit, dat in deze rubriek alle dieren behandeld werden uit de bedrijven, waar de endemische sterilitéit heerschte, terwijl in de rubrieken van hoofdstuk V zeer geselecteerd materiaal werd gegroepeerd.

Bij de dieren, die na een tweede inseminatie nog niet dragend werden, was slechts bij één een catarrhale endometritis geconstateerd. Hieruit mag worden aangenomen, dat een infectie van koe op koe zeer twijfelachtig is. Meerdere gevallen zijn geïnsemineerd, waarbij een koe vlak naast een andere stond, die behept was met de catarrhale endometritis. Zelfs werden meerdere met goed gevolg geïnsemineerd, die op een stal stonden te midden van een beslag, dat voor drie-vierde was geïnfecteerd. Ook in de weide is mij van deze overbrenging niets gebleken. De meeningen van Albrechtsen en Hess, dat deze endometriden direct aansluiten aan den partus op minder hygiënische bedrijven en dan van de eene koe op de andere overgaan, komt niet overeen met mijn bevindingen.

Conclusie: Bij de verspreiding van de catarrhale endometritis speelt het contact van zieke met gezonde dieren slechts bij uitzondering een rol. Het agens, dat voor het ontstaan van de catarrhale endometritis verantwoordelijk gesteld moet worden, wordt overgebracht door den stier.

3. **Kunstmatige inseminatie bij dieren, behoorende bij bedrijven, waar catarrhale endometritis endemisch voorkomt, met sperma van een geïnfecteerden stier.**

De gegevens uit voorgaande groepen hebben mij tot de conclusie geleid, dat de stier verantwoordelijk gesteld moet worden voor het endemisch optreden der catarrhale endometritis.

Mij rest nu nog klaarheid te brengen, aangaande de vraag, of de smetstof overgebracht wordt door het sperma of door het contact van den penis met het vrouwelijk genitaal-apparaat.

Daartoe heb ik een aantal kunstmatige inseminaties verricht met sperma van stieren uit bedrijven, waar endemische catarrhale endometritis voorkwam.

In een stierenvereniging in mijn praktijkgebied waren in het jaar 1938 reeds 55 koeien gedekt en 54 dragend. 7 dieren waren éénmaal opgebroken. In een tijdsbestek van 4 dagen kwamen 8 reeds gedekte dieren terug en 2 weken daarop volgde nog een 9-tal. Uit mijn onderzoek bleek, dat hier een catarrhale endometritis in het spel was en dat alle opbrekers er min of meer aan leden. Er werd besloten, de nog niet gestierde koeien kunstmatig te bevruchten, terwijl ook de opbrekers in behandeling genomen zouden worden. De inseminaties geschiedde in volle bronst en met sperma van den stier, die alle opbrekende koeien had gedekt. Het sperma was van uitstekende kwaliteit.

Van deze behandeling kan het volgende worden vermeld:

- a. *Dieren, waarbij niet eerder de coitus heeft plaats gevonden.*

32 inseminaties vonden plaats; hiervan gaven 23 bevruchtingen, d. i. 72 %.

9 dieren werden niet gravide; 3 hiervan werden bij een tweede inseminatie in de volgende bronstperiode drachtig.

1 werd na een derde inseminatie dragend.

Bij 1 was een purulente endometritis waar te nemen, die na behandeling met Solutio Lugoli bij de derde inseminatie dragend werd.

Bij 2 dieren was de bevruchting na een tweede behandeling nog uitgebleven; één hiervan had een catarrhale endometritis, die reeds bij de eerste inseminatie bestond.

2 dieren waren behandeld met minder bevruchtend sperma en werden een volgenden keer met succes geïnsemineerd.

b. Dieren, die eerder door den geïnfecteerden stier zijn gedekt.

16 inseminaties vonden plaats; bij de eerste behandeling werd geen der dieren dragend. In alle gevallen bestond in meer of mindere mate een catarrhale endometritis.

4 dieren werden zonder verdere behandeling dragend na de tweede inseminatie.

Bij 5 dieren werd de uterus-cervix-vaginabehandeling toegepast met Solutio Lugoli en jodiumtinctuur. 3 hiervan werden met succes geïnsemineerd.

Van de 7 overgebleven dieren kan nog worden vermeld, dat twee nog éénmaal, twee andere nog tweemaal werden geïnsemineerd, maar zonder resultaat.

Twee werden niet verder behandeld.

TABEL XVI.	Aantal inseminaties	Positief	Negatief	Bevruchtigingspercentage
Niet eerder gestierd; geïnsemineerd met sperma van een geïnfect. stier.	32	23	9	72 ^o / _o
Wel eerder gestierd; geïnsemineerd met sperma van een geïnfect. stier.	16	0	16	0 ^o / _o

De verdeling van de 48 gevallen over de verschillende bedrijven is als volgt:

Bedrijf A. Hiertoe behoorden 14 dieren, waarvan 5 waren opgebroken. De overigen, 9 in getal, waren niet gestierd; 8 hiervan werden bij de eerste inseminatie dragend. Bij de 9e bestond tijdens de inseminatie een catarrhale endometritis.

Bedrijf B. Hiertoe behoorden 5 dieren, die geen van alle opgebroken waren. 3 werden bij de eerste inseminatie dragend, 2 bij de tweede.

Bedrijf C. Hiertoe behoorden 14 dieren, waarvan 5 waren opgebroken. Een 9-tal was niet gestierd; 8 hiervan werden bij de eerste inseminatie dragend. Bij 1 bleef de bevruchting na de vierde behandeling nog uit.

Bedrijf D. Hiertoe behoorden 8 dieren, waarvan 4 waren opgebroken. Van de overige 4 werden 2 bij de eerste inseminatie dragend; de andere twee waren behandeld met minder goed sperma; hierbij had een volgende bevruchting succes.

Bedrijf E. Hiertoe behoorden 7 dieren, waarvan 2 waren opgebroken. Van de overige 5 werden 2 bij de eerste insemi-

natie dragend; 1 na de tweede en 1 na de derde behandeling (dit dier had een cervixspange). 1 dier leed aan een purulente endometritis, die na een lugolbehandeling eveneens dragend werd.

Met het sperma van bovenbedoelden stier zijn verder nog ongeveer 500 inseminaties bij dieren uit andere bedrijven verricht, zonder dat mij daarbij gebleken is, dat catarrhale endometrites is opgetreden.

Van een vijftal andere stieren uit bedrijven, waarop catarrhale endometritis endemisch voorkwam, zijn ongeveer 60 inseminaties gedaan, zonder dat ook daardoor catarrhale endometritis werd veroorzaakt.

Om de mogelijkheid te ontwijken, dat het toeval bij de uitkomsten een te groote rol speelt, heb ik de waarschijnlijkheidsberekening toegepast in vergelijking met de voorgaande rubriek. Natuurlijk heb ik uit de laatste rubriek daarvoor genomen de dieren, die niet waren gestierd.

Wij krijgen dan:

	Positief	Negatief	Totaal
Sperma van een geïnfecteerden stier.	23	9	32
Sperma van een niet geïnfecteerden stier.	46	17	63
Totaal.	69	26	95

Na de berekening van de theoretische frequentie krijgen wij:

Positief	Negatief	Totaal
23,35	8,65	32
45,65	17,35	63
69	26	95

$$X^2 \text{ wordt dus } \frac{0,1225}{45,65} + \frac{0,1225}{17,35} + \frac{0,1225}{23,35} + \frac{0,1225}{8,65} \text{ is } 0,2916.$$

Uit de tabellen van Fisher blijkt, dat tusschen de beide uitkomsten geen verschil kan aangenomen worden, dus dat de bevruchtingspercentages van de beide rubrieken niet als verschillend beschouwd moeten worden (een waarschijnlijkheid van 95 %).

Bij nadere bestudeering van de gegevens ziet men hier een bevestiging van hetgeen in de voorgaande rubriek is naar voren gekomen, n.l. dat infectie van dier op dier zoo goed als niet voorkomt. Verder, dat een kunstmatige inseminatie bij dieren met catarrhale endometritis geen waarde heeft.

Een belangrijke vondst treedt hier aan 't licht, n.l. dat het bevruchtingspercentage, in vergelijking met de voorgaande rubriek, vrijwel even hoog is, dus dat het gebruik van sperma van een stier, die geacht wordt de overbrenger van de endometritis te zijn, voor de kunstmatige bevruchting niet schadelijk is. Het sperma van een z.g. geïnfecteerden stier bracht het agens, dat verantwoordelijk gesteld moet worden voor de endometritis catarrhalis, niet over.

Dit was mij ook reeds gebleken bij het gebruik van sperma van andere stieren, die dienst deden op geïnfecteerde bedrijven. Bij voorkomende gevallen kunnen dus de dieren, behorende tot een bedrijf, waar catarrhale endometritis endemisch voorkomt en die nog niet in contact zijn geweest

met den geïnfecteerden stier, kunstmatig geïnsemineerd worden met sperma, afkomstig van den stier, die bij het bedrijf behoort.

Beschouwen wij de verdeling van de endometritiden over de verschillende bedrijven, dan valt ons op, dat schijnbaar op bedrijf B geen infectie is voorgekomen. Mogelijk wijst dit er op, dat een bepaalde immuniteit de dieren op dat bedrijf heeft beschut tegen de infectie.

Conclusie: Sperma van een stier, behoorende tot een bedrijf, waar catarrhale endometritis heerscht, is niet infectieus.

Hierna volgt in Tabel XVII nog een vergelijking van de 3 laatste rubrieken:

TABEL XVII.	Positief	Negatief	Totaal	Bevruchtingspercentage
A ¹ . Dieren waren eerder gedekt door een geïnfecteerden stier.	13	88	101	10,3%
A ² . Dieren van bedrijven met catarrh. endom. die niet waren gestierd. Inseminatie met sperma van een niet geïnfect. stier.	46	17	63	74,6%
A ³ . Dieren uit bedrijven met catarrh. endom. die niet waren gestierd. Inseminatie met sperma van een geïnfect. stier.	23	9	32	72%

B. Kunstmatige inseminatie bij afwijkingen aan cervix en vagina.

Afwijkingen in den anatomischen bouw van deelen van het geslachtsapparaat kunnen in sommige gevallen oorzaak zijn van steriliteit. Meerdere dergelijke afwijkingen heb ik kunnen waarnemen en wanneer de indicatie ervoor bestond, de kunstmatige bevruchting als therapeuticum aangewend. Uit den aard der zaak kunnen wij anatomische abnormaliteiten aan ovarium en uterus buiten beschouwing laten.

1. Cervix afwijkingen.

Daar de cervix een zoo belangrijke rol speelt bij het bevruchtingsproces, lag het voor de hand, dat een abnormale bouw hiervan vrij zeker van invloed zou kunnen zijn op het af of niet tijdig bevrucht worden. Door de kunstmatige bevruchting is men steeds in de gelegenheid met de vaginoscoop het inwendige van de vagina en de cervix te belichten, waardoor men routine krijgt in het beoordeelen van een normale vagina en cervix. Hierdoor is men ook in staat de afwijkingen direct te constateeren en een indruk te verkrijgen over de frequentie van die afwijkingen. Zoo zijn er verschillende cervixafwijkingen door mij geconstateerd, die tot steriliteit aanleiding gaven. Hierbij is getracht door kunstmatige inseminatie de onvruchtbaarheid op te heffen.

Mijn waarnemingen kunnen als volgt worden gegroepeerd:

a. *Congenitale afwijkingen.*

1e. Cervixspangen. (Fleischspangen.)

Gedurende de ontwikkeling van den uterus uit de Müllersche gangen is het mogelijk, dat volkomen versmelting tot één cervix en één vagina niet steeds plaats vindt. Men krijgt dan een dubbele cervix opening, die ieder voor zich verbonden is met een cervixkanaal en dit weer met een uterushoorn (uterus duplex). Heeft echter de versmelting

van de gangen iets vollediger plaats, doch nog niet geheel, dan komt het voor, dat alleen het orificium externum in twee deelen is verdeeld en het cervixkanaal en uterushoornen normaal zijn. In dat geval spreekt men van een cervixspange, die zich als een min of meer dikke streng, gelijk een brug, over het orificium externum uitstrekt.

Albrechtsen meent, dat deze Fleischspangen de natuurlijke involutie van den uterus vertragen en daardoor een catarrh van uterus en cervix veroorzaken. Dit is volgens hem de reden, dat men deze afwijking zelden bij oudere koeien aantreft, daar die wegens steriliteit zijn opgeruimd. Anderen zijn van meening, dat mechanisch door deze afwijking de bevruchting wordt belet. Hebben deze laatsten gelijk, dan zou de kunstmatige bevruchting hier zeer op zijn plaats zijn.

In mijn materiaal kwam viermaal een dergelijke cervixspange voor en ik heb dan ook niet gearzeld de kunstmatige inseminatie toe te passen. Bij drie hiervan was de brug als een breede streng van ongeveer $1\frac{1}{2}$ c.M. waar te nemen en gaf het moeilijkheden de canule goed in de cervix te plaatsen. Zij waren resp. 2, 3 en 2 maal gestierd en werden drachtig na resp. een 2-, 2- en 3-malige inseminatie. De vierde had een veel smallere streng over het orificium en werd twee opeenvolgende jaren wegens steriliteit aangeboden, nadat zij resp. 3 en 1 maal was gestierd. Het eerste jaar gaf zij bevruchting na een éénmalige inseminatie, het tweede jaar waren daarvoor twee behandelingen noodig.

2e. Excentrische ligging van de cervix.

Niet steeds ligt de cervix centraal in het cavum vaginale. Af en toe ziet men de ligging meer dorsaal, een andere maal meer ventraal.

Het is zesmaal voorgevallen, dat bij een steriliteitsgeval als eenige afwijking een dergelijke dorsaal gelegen cervix was waar te nemen. De dieren waren resp. 2, 5, 6, 2, 2, en 2 maal gestierd. Na éénmaal insemineeren werden 5 dieren drachtig. Bij de zesde bleef na de tweede behandeling de bevruchting nog uit. Deze resultaten zijn bemoedigend.

b. *Verkregen afwijkingen.*

1e. Lidteekencontractie.

Bij runderen komt het voor, dat gedurende den partus een incompleete ruptuur van den dorsalen cervixwand optreedt. Na de genezing heeft zich vaak ter plaatse een lidteeken gevormd, waardoor de bovenwand van de cervix is gecontracteerd en het orificium externum dorsaal is omgebogen. Bij de inseminatie van dergelijke dieren was het in den regel niet mogelijk de canule in het cervixkanaal te voeren, doch moest worden volstaan met het sperma in het orificium te druppelen.

Er werden 11 dieren behandeld, die deze afwijking hadden. Hiervan waren 9, die slechts éénmaal hadden gekalfd. Zij waren resp. 11, 4, 3, 1, 3, 8, 1, 4, 2, 0 en 2 maal gestierd. Acht dieren werden bij de eerste behandeling bevrucht, waaronder ook behoorden de beide dieren, die resp. 11 en 8 maal waren gestierd. Twee werden bij de tweede behandeling drachtig en bij één bleef de graviditeit uit.

Dit resultaat doet het vermoeden uitspreken, dat deze afwijking een mechanische belemmering is voor de bevruchting.

2e. Misvorming van de cervix.

Een zeer enkele keer komt het voor, dat de cervix geheel misvormd is. De oorzaak daarvoor kan worden gezocht in een moeilijke abnormale verlossing, waarna een gangraeneus proces in de cervix is ontstaan, dat later misschien door demarcatie genezen is. In een tweetal gevallen heb ik hierbij wegens steriliteit de kunstmatige bevruchting toegepast.

Geval 1. Het dier is kunstmatig verlost en heeft daarna geleden aan een ernstige vaginitis cum cervicitis. Nadat dit dier driemaal gestierd was, bleef bevruchting nog uit. Ook na een driemaalige kunstmatige inseminatie gelukte het niet, de bevruchting tot stand te brengen. Verschijnselen van endometritis ontbraken.

Geval 2. Het dier is bij den eersten partus kunstmatig verlost, waarbij de cervix ernstig had geleden. Het volgend jaar is het niet drachtig geworden. Het derde jaar is het na driemaal tevergeefs gestierd te zijn, bij de tweede inseminatie bevrucht geraakt. Het vierde jaar waren drie kunstmatige inseminaties noodig om drachtigheid te verkrijgen.

Geval 3. Het moet als een uitzondering worden beschouwd, als in de cervix een cyste wordt aangetroffen. Het zal van de plaats afhangen of de cyste steriliteit bij het dier zal veroorzaken.

Een dergelijk geval heb ik aangetroffen, waarbij de cyste het orificium externum terzijde drukte. Na een driemalige behandeling werd bevruchting verkregen.

Conclusie: Uit mijn waarnemingen meen ik te mogen concludeeren, dat er congenitale en verkregen cervix afwijkingen voorkomen, waarbij de coitus niet tot bevruchting leidt, omdat het sperma belet wordt zich naar den uterus te begeven. Onder deze gevallen komen er voor, waarbij na kunstmatige inseminatie bevruchting intreedt.

2 Vagina afwijkingen.

a. Congenitale afwijkingen.

1e. Fleischspangen in de vagina.

Evenals bij de cervixspangen is opgemerkt, zijn ook de Fleischspangen in de vagina een overblijfsel van den wand tusschen de Müllersche gangen.

Deze Fleischspangen zijn bij belichting van de vagina bij pinken te zien, als een streng iets oraal van de urethra gelegen en loopende van den dorsalen naar den ventralen wand van de vagina. Ter plaatse van de aanhechting aan den vaginawand is de streng in den regel breeder.

Volgens Richter (44) is deze streng voor de steriliteit van ondergeschikte beteekenis. Mijns inziens is dit niet geheel juist.

Door mij zijn 6 dieren behandeld, die als opbrekers werden aangeboden. Ze waren resp. 6, 2, 3, 1 en 2 maal gestierd, terwijl de zesde het eerste jaar niet drachtig geworden was en dit jaar tweemaal zonder resultaat was gedekt. Zij werden allen bij de eerste inseminatie drachtig.

Bij de normale bevruchtingen is mij gebleken, dat een dergelijke vaginaspange bij pinken vrij veel voorkomt (ongeveer 25 %) en dat de normale coitus en bevruchting daarbij zeer wel mogelijk is. Dit blijkt ook uit de aanwezigheid van deze strengen bij den partus van primiparae.

De meening van Richter kan ik echter niet geheel deelen, daar het voor kan komen, dat een Fleischspange door zijn breede aanhechting aan de ventrale zijde, de natuurlijke reiniging van de vagina tegen gaat. Daardoor blijft secretum in de vagina staan; er ontwikkelen zich spermatoxinen, die de bevruchting beletten.

Bovengenoemde gevallen wijzen mijns inziens in die richting.

b. *Verkregen afwijkingen.*

1e. Abnormale ligging van de vagina.

In drie gevallen werden oudere dieren behandeld met een ingezakten rug en een uitgezakten buik. De vulva stond hier niet verticaal, doch meer horizontaal met de dorsale commissuur naar voren verplaatst. De vagina was oraal veel lager gelegen dan caudaal en de cervix lag diep. In de vagina bevond zich veel slijm. De dieren waren alle 2 maal gestierd.

In twee gevallen werd bij de eerste inseminatie bevruchting verkregen, bij één dier bleef de bevruchting uit. Het volgend jaar werd één der dieren ten tweeden male behandeld met eveneens gunstig resultaat.

Het ligt voor de hand, dat deze afwijking aanleiding kan geven tot steriliteit, omdat het sperma in een groote hoeveelheid slijm terecht komt en zeer moeilijk den weg naar de cervix zal vinden, die geheel onder het slijm ligt bedolven. Ook komt het voor, dat het slijm met urine is vermengd

(urovagina). Ongetwijfeld zullen in deze gevallen ook de gevormde spermatoxinen de spermatozoiden doodden. Stolz (53) heeft reeds gewezen op de toepassing van de kunstmatige bevruchting als therapeuticum bij steriele koeien tengevolge van urovagina.

2e. Stricturen in de vagina.

Eén dier was kunstmatig verlost. In de vagina was een strictuur aanwezig, waardoor in het midden een verhooging optrad, waarachter een ophooping was van een weinig etterig slijm. Na 7 maal gedekt te zijn, was nog geen bevruchting opgetreden. Bij de eerste inseminatie verkreeg ik bevruchting, waaruit verklaard kan worden, dat de slijmophooping vrij zeker een toxischen invloed op het sperma had uitgeoefend.

Conclusie: Congenitale en verkregen afwijkingen van de vagina kunnen steriliteit ten gevolge hebben, doordat stasis van vaginaal secretum optreedt, waarin spermatoxinen gevormd worden. Kunstmatige inseminatie kan in deze gevallen dikwijls tot bevruchting leiden.

C. Kunstmatige inseminatie bij dieren, die één of meermalen waren gestierd en waarbij geen klinische afwijkingen werden waargenomen.

Iedere practicus ontmoet jaarlijks bij de bestrijding van de steriliteit onder het rundvee gevallen, waarbij het hem niet mogelijk is, de oorzaak van het lijden vast te stellen. Noch door palpatie, noch door inspectie zijn afwijkingen aan het geslachtsapparaat waar te nemen, terwijl ook de anamnese geen afwijking in den sexueelen cyclus aangeeft. De oestrus keert, niettegenstaande herhaalde dekkingen, alle drie weken terug.

Vooral in den zomer, wanneer de dieren in een goede weide

loopen, is het zeer onwaarschijnlijk, dat gebrek aan mineralen of vitaminen als oorzaak der onvruchtbaarheid moet worden beschouwd. Ik wil niet de mogelijkheid ontkennen, dat zich onder de patiënten in deze rubriek dieren bevinden, die lijdende zijn aan endometritis latentia, waarvan de symptomen vaak uitermate gering zijn en klinisch de afwijking niet kan worden vastgesteld. Bij 181 van deze koeien heb ik kunstmatige bevruchting toegepast, terwijl zij zich in volle bronst bevonden, met sperma van goede kwaliteit.

Tot deze groep behooren:

a. 76 dieren, welke éénmaal gestierd waren; bij 49 volgde bevruchting, d. i. 64,47 %.

27 dieren bleven na de eerste kunstmatige inseminatie onbevrucht. Van dit aantal kan het volgende worden vermeld:

- 1e. 12 dieren werden voor de tweede maal kunstmatig bevrucht, waarvan 6 drachtig werden.
- 2e. Van de 6 niet bevruchte dieren werden 3 bij de derde inseminatie bevrucht.
- 3e. 15 dieren werden niet verder behandeld.

b. 74 dieren, welke tweemaal gestierd waren; bij 40 volgde bevruchting, d. i. 54 %.

34 dieren bleven na de eerste kunstmatige inseminatie onbevrucht. Van dit aantal kan het volgende worden vermeld:

- 1e. 19 dieren werden voor de tweede maal kunstmatig bevrucht, waarvan 11 drachtig werden.
- 2e. 15 dieren werden niet verder behandeld.

c. 22 dieren, welke driemaal gestierd waren; bij 17 volgde bevruchting, d. i. 77,3 %.

5 dieren bleven onbevruucht. Hiervan kan nog worden vermeld:

1e. 3 dieren werden voor de tweede maal kunstmatig bevrucht, waarvan 2 met positief resultaat.

2e. 2 dieren werden niet verder behandeld.

d. 3 dieren, welke 4 maal gestierd waren; bij 2 volgde bevruchting, de andere werd bij de tweede inseminatie drachtig.

e. 5 dieren, welke 5 maal gestierd waren; bij 2 volgde bevruchting.

3 dieren bleven bij de eerste inseminatie onbevruucht, waarvan nog kan worden vermeld:

1e. 2 dieren werden voor de tweede maal kunstmatig bevrucht, waarvan 1 drachtig werd.

2e. 1 werd niet verder behandeld.

f. 1 dier was 6 maal gestierd en werd bij de eerste inseminatie drachtig.

Bij de eerste inseminatie trad dus van de 181 dieren bij 111 bevruchting op, d. i. 61,32 %

Na een driemaalige behandeling van een gedeelte van de niet bevruchte koeien vond bevruchting nog bij 24 dieren plaats. In het geheel werden dus 135 drachtig of 74,58 %.

Het spreekt vanzelf, dat bovenstaande dieren gedeeltelijk ook door den stier hadden kunnen worden bevrucht, zoodat men daarbij niet van steriliteit mag spreken. Vele veehouders hadden de gewoonte de koeien, die eenmaal terug stierden, kunstmatig te laten insemineeren. Het bleek mij, dat de oorzaak van het niet drachtig worden, in een aantal gevallen geweten moest worden aan het gebruik van onvruchtbare stieren.

Volledigheidshalve heb ik deze groep genoemd, maar ik acht het niet wenschelijk een conclusie uit de verkregen resultaten te trekken.

TABEL XVIII.	Aantal inseminaties	Positief	Negatief	Bevruchttingspercentage
Dieren, die één of meer malen waren gestierd, zonder klinisch waarneembare afwijkingen.	181	111	70	61,32 ^o / _o

D. Bijzondere gevallen.

a. Een 9-tal was reeds een korten tijd dragend geweest, althans de eigenaar had geen tochtigheid weer opgemerkt na de eerste dekking. 6, 7, 7, 9, 6, 6, 9, 8 en 9 weken na de dekking trad de oestrus weer op. Zonder een bronstperiode over te slaan, werd zesmaal direct weer bevruchting verkregen. Of de vrucht in dergelijke gevallen wordt geresorbeerd, dan wel wordt uitgestooten, geeft aanleiding tot verschil van meening. Eén geval is vermeldenswaardig. Het dier had ik kunstmatig geïnsemineerd en stond alleen op stal. Na acht weken kwam de eigenaar zeggen, dat de koe een klein kalfje had uitgestooten. Inderdaad bleek bij mijn komst een klein vruchtje, gehuld in de vruchtvliezen, aanwezig te zijn. Vaginaal was bij het dier, behalve een vrij groote hoeveelheid slijm, geen afwijking waar te nemen. De koe werd direct weer geïnsemineerd en werd drachtig. Het kalf werd nu normaal uitgedragen.

b. Bij een viertal dieren was de bronst eerder opgetreden dan normaal en wel resp. 16, 12, 12 en 11 dagen na de dekking, eventueel inseminatie. Zij werden allen met gunstig resultaat geïnsemineerd.

c. Een negental gevallen werd waargenomen, waarbij drie dagen na de inseminatie bloeduitvloeiing uit de vagina op-

trad. Toch werd tengevolge van deze kunstmatige inseminatie drachtigheid verkregen. De meening, die bij de veehouders heerscht, dat in gevallen, waarbij bloeding na de dekking optreedt, geen drachtigheid zal volgen, wordt hierdoor niet bewaarheid.

d. Eén dier was 4 maanden drachtig geweest en aborteerde. 17 dagen daarna werd het dier weer met succes geïnsemineerd.

e. Eénmaal was het sperma door toevallige omstandigheden rijkelijk met leucocyten vermengd. Bevruchting hiermede kwam toch na de inseminatie tot stand.

E. Samenvatting en bespreking der onder A., B., C. en D. verkregen resultaten.

Ongeveer 450 bevruchtingsgevallen, verricht bij abnormale en verdachte runderen, zijn beschreven. Zij zijn onderverdeeld in vier hoofdgroepen A., B., C. en D.

Groep A. Kunstmatige inseminatie op bedrijven, waar catarrhale endometritis heerscht. Inseminatie in volle bronst en met sperma van goede kwaliteit. De inseminatie vond plaats:

- 1e. Bij dieren, die reeds één of meermalen door een geïnfecteerden stier waren gedekt. Hiertoe behoorden 101 dieren, waarvan na één inseminatie 13 drachtig werden, d. i. 10,3 %.
- 2e. Bij dieren, die niet eerder waren gedekt en waarbij geïnsemineerd werd met sperma van een niet geïnfecteerden stier. Hiertoe behoorden 63 dieren, waarvan na één inseminatie 46 drachtig werden, d. i. 74,6 %.
- 3e. Bij dieren, die niet eerder gestierd waren en waarbij geïnsemineerd werd met sperma van een geïnfecteerden

stier. Hiertoe behoorden 32 dieren, waarvan 23 na de eerste inseminatie drachtig werden, d. i. 72%.

Uit deze verkregen gegevens kunnen waardevolle conclusies afgeleid worden:

- 1e. Het heeft geen nut in bedrijven, met endemisch optredende endometritis, de opbrekende koeien kunstmatig te insemineeren.
 - 2e. Het is zeer waarschijnlijk, dat de besmetting bij de endemisch optredende endometritis hoofdzakelijk plaats vindt bij den coitus. Besmetting van een ziek op een gezond vrouwelijk dier is niet uit te sluiten, doch is van minder beteekenis dan de eerstgenoemde.
 - 3e. Het besmettelijk agens van de endemisch optredende endometritis der koeien wordt niet overgebracht door het sperma, maar vooral door het contact van het mannelijk dier met het vrouwelijk geslachtsapparaat.
- In tabel XVII zijn de resultaten weergegeven.

Groep B. Kunstmatige inseminatie bij afwijkingen aan cervix en vagina.

Bij cervixspangen, excentrisch gelegen cervix, lidtekencontracties en misvormingen aan de cervix, is in meerdere gevallen met behulp van de kunstmatige bevruchting drachtigheid verkregen.

Zoo ook bij vagina afwijkingen, b.v. Fleischspangen in de vagina, abnormale ligging van de vagina en strictuur in de vagina.

Groep C. Deze bevat 181 inseminaties bij dieren, die reeds eerder waren gestierd, doch waarvan de oorzaak van de steriliteit niet kon worden vastgesteld, althans niet bij het vrouwelijk dier. In meerdere gevallen was de stier de oorzaak van het opbreken. Van deze 181 werden na de eerste behandeling 111 bevrucht, d. i. 61,32%.

Groep D. Deze bevat enkele bijzondere bevruchtingsgevallen, die in het kort besproken zijn.

De gevonden gegevens hebben ons een goed wapen verschaft ter bestrijding van de steriliteit, voornamelijk bij de endemisch voorkomende catarrhale endometritis. Goede voorlichting aan de veehouders is hier een zaak van dringend belang. Zij dienen te weten, wanneer de steriliteit op het bedrijf aanwezig is. Over het algemeen kan men zeggen, dat er iets aan het bevruchtungsvermogen hapert, indien enkele dieren achter elkaar opbreken. Dan is het van zeer groot belang, niet verder door te gaan met de dekkingen, doch de oorzaak op te sporen. Bij een eventueel voorkomende catarrhale endometritis dient direct ingegrepen te worden; de koeien, die niet zijn gestierd, moeten kunstmatig worden geïnsemineerd, desgewenscht met sperma van den gebruikten stier (men zorge voor goede reiniging van de kunstmatige vagina na het gebruik bij een dergelijken stier). De reeds gestierde dieren dienen onverwijld de lugolbehandeling te ondergaan. Lugolbehandeling gedurende de bronst verdient de voorkeur, hoewel massabehandeling op één oogenblik ook mogelijk is. Zooals reeds eerder genoemd wordt door mij de gecombineerde behandeling toegepast. Rectaal wordt uit de ovaria verwijderd, wat er niet in hoort; de uterus wordt behandeld met Sol. Lugoli en de vagina en cervix met jodiumtinctuur. Wanneer de therapie niet tijdens de bronst geschiedt, dan laat ik de behandeling der ovaria achterwege, als daarvoor geen aanleiding bestaat. Een ontijdig blaasje volgens de Graaf of een normaal corpus luteum dient men te laten rusten. Ook zij er op gewezen, dat een uterusbehandeling met te sterke lugolinjecties volgens mijn ervaring wel eens aanleiding kan geven tot cystevorming in de ovaria. Men verzuime bovendien nooit bij een steriliteitsgeval het sperma te onderzoeken van den gebruikten stier.

Verder kan bij de individueele gevallen veelal door kunstmatige inseminatie bevruchting verkregen worden, b.v. bij cervix- en vagina-afwijkingen, alsmede bij vele gevallen, waarbij klinisch niets is waar te nemen. Men zij evenwel op

zijn hoede, vooraf goed overtuigd te zijn, dat geen catarrhale endometritis in het spel is. Zeer dikwijls uitgevoerd onderzoek der vagina met behulp van de vaginoscoop, zooals die beschreven is in hoofdstuk IV (onder inseminatie), zal langzamerhand een juiste diagnose garandeeren.

Gezien bovenstaande gegevens zal het de dierenarts moeten zijn, die zal worden belast met de kunstmatige inseminatie. Hij alleen is het, die een goed oordeel kan hebben over de steriliteit in al haar vormen en schakeeringen. Daarentegen heeft de dierenarts ook de plicht, zich dermate in het onvruchtbaarheidsvraagstuk in te werken, dat hij dit werk ook waardig blijkt te zijn.

HOOFDSTUK VII.

KUNSTMATIGE INSEMINATIE NA VERZENDING VAN HET SPERMA OVER GROOTEN AFSTAND.

In het voorjaar 1937 zijn, met medewerking van Dr. J. Edwards en Dr. Walton te Cambridge, spermamonsters verzonden van Oldeberkoop naar Cambridge en terug, met behulp van de K.L.M.

De minimumtijd, verstreken tusschen het verzamelen van het sperma te Oldeberkoop en de inseminatie te Cambridge, was 26 uur, de maximumtijd 57 uur. Het sperma werd op de normale wijze verzameld, overgeheveld in een nauw reageerbuisje, afgesloten met paraffine en gesloten met een kurkje. Dit werd in een laagje watten gewikkeld en gehuld in een vingercondoom. Gedurende een uur werd het geheel geplaatst in een thermosflesch met water van 10° C., waarna het werd overgebracht in een thermosflesch, gedeeltelijk gevuld met ijssnippers, zoodat daarin, gedurende de verzending, het sperma een temperatuur had van iets boven het vriespunt. De thermosflesschen werden gewikkeld in geribd papier, zoodanig, dat ongeveer zes omwindingen werden gebruikt, opdat het gevaar van breken zou worden uitgesloten. Door het hardhandig vervoer kwamen de eerste vijf zendingen helaas geheel gebroken te Cambridge aan, zoodat ik er toe overging, de thermosflesch in een kistje met houtzaagsel te verzenden. De verzendingen Cambridge-Oldeberkoop kwamen onbeschadigd aan, waarbij geribd papier als verpakking dienst deed.

Verzending Oldeberkoop-Cambridge.

Vijf zendingen werden ongeschonden te Cambridge ontvangen in de maanden Januari en Februari. Juist in dezen tijd produceerde mijn stier sperma van minder goede kwaliteit. Het dier had bovendien een geringen deklust. Hij produceerde 1—1½ c.M³. met een concentratie van ongeveer 300 miljoen per c.c. (telling in Cambridge). Het sperma kwam dan ook in minder goede conditie aan. Slechts drie zendingen werden voor bevruchting geschikt geacht en wel 1 op 9 Januari en 2 op 11 Februari 1937. De eerste was 72 uur oud (7 Januari 1937 was een nationale feestdag), de tweede 48 uur en de derde 28 uur. Alle bevruchtingen werden verrijkt met een verdunning van 1—1; hiervan werd 1 c.c. voor elke inseminatie gebruikt. De bijzonderheden van elk bevruchtingsgeval zijn de volgende:

Inseminatie op 9 Januari 1937. Sperma is 72 uur oud.

Koe No. 1. Eénmaal eerder gestierd. Normale inseminatie. Teruggekomen op 22 Februari.

Koe No. 2. Niet eerder gestierd. Normale inseminatie. Teruggekomen op 12 Januari.

Koe No. 3. Tweemaal eerder gestierd. Normale inseminatie. Teruggekomen in Mei.

Inseminatie op 11 Februari 1937. Sperma is 48 uur oud.

Koe No. 4. Tweemaal gestierd. Tijdens de inseminatie was de cervix wijd open. Teruggekomen op 21 April.

Koe No. 5. Niet eerder gestierd. Teruggekomen op 9 Maart.

Inseminatie op 11 Februari 1937. Sperma is 28 uur oud.

Koe No. 6. Niet gestierd. Teruggekomen in Juni.

Koe No. 7. Niet gestierd. Normale inseminatie. Het dier heeft 25 November gekalfd en was drachtig geworden van deze inseminatie.

Koe No. 8. Niet gestierd. De koe was zeer onrustig tijdens de inseminatie. Teruggekomen op 22 Februari.

Het is niet gemakkelijk de resultaten naar waarde te beoordeelen. Zooals gezegd, was het sperma van minder goede kwaliteit en de dieren vormden geen geschikt materiaal.

No. 2 kwam na drie dagen terug; no. 3 en 6 hebben in 3 en 4 maanden geen bronst vertoond, terwijl ook no. 4 en 8 niet als normaal zijn te beschouwen.

Verzending Cambridge-Oldeberkoop.

Het sperma in Engeland werd genomen van een stier, die vanuit Friesland daar ingevoerd was. (Nico's Lindberg). Bij vroegere ejaculaten was gebleken, dat het dier sperma produceerde van zeer goede kwaliteit. Er werden 11 monsters verzonden en zooals de tabel aangeeft, was het volume van de ejaculaten 5, 6, 7, 9 en 11 geringer en ook de concentratie daarvan was minder, terwijl no. 8 het beste ejaculaat was. No. 10 was van een Shorthorn stier en er bij verzonden, omdat het andere ejaculaat (no. 9) minder goed was.

Er was geen twijfel aan, dat de ejaculaten met de hoogste concentratie na het bewaren de beste condities hadden. Het sperma met een middelmatige concentratie (300—500 miljoen per c.M³.) had een zeer geringe beweging.

De inseminatie geschiedde met onverdund sperma, terwijl elke koe met ongeveer 1 c.c. werd geïnsemineerd.

Van de 26 dieren, die behandeld werden, hebben 8 een normaal kalf geworpen. Om de resultaten naar waarde te schatten, wordt elk bevruchtingsgeval afzonderlijk besproken. Ook hier is het moeilijk uit het heterogene materiaal een juiste beoordeeling te verkrijgen. Een koe toch, die reeds driemaal tevergeefs gedekt is, kan nooit een geschikt proefdier zijn om het bevruchtungsvermogen van een ejaculaat te testen. Dit wordt het beste geïllustreerd door de inseminaties met ejaculaat no. 8. Hiermede werden zeven koeien behandeld en drie werden drachtig. Hiervan waren twee nog niet gestierd en één was eenmaal tevergeefs geïnsemineerd. Van

de vier niet drachtige is no. 16 steriel gebleven; no. 18 moest een ovariumbehandeling ondergaan, alvorens in Juli bevrucht te kunnen worden. No. 21 was reeds één keer gestierd en één keer geïnsemineerd. Het dier moest later nog twee inseminaties ondergaan, alvorens gravide te worden. De vierde niet bevruchte koe was niet eerder gedekt of geïnsemineerd geweest.

Zooals de staat aangeeft, werd geen dier bevrucht van de ejaculaten met geringe concentratie (300—600 millioen per c.c.). Bij de ejaculaten, die wel bevruchting gaven, was de tijd tusschen verzamelen en inseminatie als volgt:

Nummer van het ejaculaat.	Ouderdom in uren.	Aantal geslaagde bevruchtingen.
1	28½	2
10	31	1
4	46	2
8	46	2
8	57	1

De langste tijd tusschen inseminatie en verzameling was hier 57 uur. Vrij zeker zal de duur nog verlengd kunnen worden, om met gunstig resultaat bevruchting te verkrijgen. Tijd en materiaal ontbraken mij echter om daar verder op in te gaan.

TABEL XIX.

No.	Zend-datum	Ouderdom in uren	Volume sperma in c.c.	Opmerkingen over het sperma.		No. van de koe	Dekstaat van de koe
				Concentratie bij vertrek	Beweeglijkheid bij aankomst		
1	30/4-35	28 ¹ / ₂ 28 ¹ / ₂	5	zeer goed	goed	1	1 x gestierd
2	4/5-37		4 ³ / ₄	zeer goed	weinig beweging	2	niet gestierd
3	14/5-37	41 ¹ / ₂	4	zeer goed	zeer goed	3	" "
4	18/5-37	46	3 ³ / ₄	zeer goed	goed	4	" "
		46				5	1 x geïnsemin.
		46				6	niet gestierd
		46				7	" "
		46				8	" "
		46				9	" "
		46				10	" "
5	20/5-37	33	2+2 ¹ / ₂	goed	weinig beweging	11	" "
6	25/5-37	54	2 ¹ / ₂	zeer goed	weinig beweging	12	1 x geïnsemin.
		54				13	niet gestierd
7	27/5-37	45	2 ¹ / ₂	goed	weinig beweging	14	" "
8	1/6-37	46	6 ¹ / ₂	uitstekend	zeer goed	15	" "
		46				16	" "
		46				17	2 x gestierd
		46				18	2 x gestierd
		57				19	1 x geïnsemin.
		57				20	niet gestierd
		57				21	" "
9	3/6-37	31	1 ¹ / ₂	weinig spermiën per c.c.	onbeweeglijk	—	1 x geïnsemin.
10	3/6-37	31	4	zeer goed	zeer goed	—	—
		31				22	niet gestierd
11	15/6-37	46	2	goed	weinig beweging	23	" "
		47				24	" "
		47				25	" "
		47				26	" "

Resultaat van de inseminatie	Opmerkingen
drachtig	---
niet drachtig	---
" "	---
" "	oestrus was over, cervix was droog. nog eens geïnsemineerd; niet drachtig.
drachtig	---
niet drachtig	18 Juni drachtig geworden.
" "	---
drachtig	het dier was pas tochtig.
niet drachtig	het dier had catarrhale endometritis.
" "	17 Juni drachtig geworden.
" "	---
" "	---
drachtig	---
niet drachtig	geïnsemineerd in Aug.; niet drachtig.
drachtig	---
niet drachtig	ovariën behandeld, Juli drachtig.
" "	---
drachtig	---
niet drachtig	na de 2e inseminatie drachtig.
---	---
niet drachtig	na de 2e inseminatie nog niet drachtig.
drachtig	---
niet drachtig	abortus en retentio secundinarum.
" "	20 Juli drachtig geworden.
" "	6 Juli drachtig geworden.

Het is niet onmogelijk, dat het spermatransport vanuit Friesland naar andere landen een kwestie van economische beteekenis kan worden. De proefnemingen, die hier beschreven zijn, geschiedden onder ongunstige omstandigheden. De koeien, die ik tot mijn beschikking had, leenden zich niet voor een juiste beoordeeling van de resultaten. Het dienen in elk geval normale dieren te zijn. Dan zullen ook ongetwijfeld de resultaten beter zijn.

Prof. M c. Kenzie te Missouri heeft mij persoonlijk medegedeeld, dat hij met succes sperma heeft verzonden van U.S.A. naar Argentinië. Na 7 dagen kwam het in goeden toestand aan en men insemineerde er mee met goed resultaat. Ook hij is van meening, dat men uit moet gaan van sperma met een hooge concentratie van ten minste 1000 miljoen spermatozoiden per c.M³.

HOOFDSTUK VIII.

DE BETEEKENIS VAN DE KUNSTMATIGE INSEMINATIE VOOR ONS LAND.

De beteekenis onder normale omstandigheden.

Er is een periode geweest, dat men vrij algemeen overging tot het oprichten van stierenverenigingen, om voor gezamenlijke rekening een stier te exploiteeren. Het doel was vooral, door samenwerking te komen tot vooruitgang van den veestapel. Dit was mogelijk, omdat men zich dan kon voorzien van beter mannelijk fokmateriaal. Een zeer groot aantal verenigingen zijn echter geliquideerd, als gevolg van de veel voorkomende dekinfecties.

De voordeelen van de verbetering wogen niet op tegen de nadeelen, veroorzaakt door de steriliteit tengevolge van de dekinfecties, waardoor het aantal stierenhouderijen en fokverenigingen de laatste jaren aanmerkelijk verminderd is. De meeste stieren, die tegenwoordig worden gebruikt, staan buiten verenigingsverband. De kwaliteit ervan is dusdanig, dat er twijfel bestaat, of zij door elkaar genomen in staat zijn, om het gehalte van den veestapel te kunnen verbeteren, of zelfs het peil op gewenschte hoogte te houden.

Het aantal dekrijpe stieren was in het jaar 1937 33745, terwijl er 1.454.867 vrouwelijke dieren waren, ouder dan 1 jaar (57). Voor elke 43 dieren was dus een stier beschikbaar.

Maakt men een kostenberekening van het opfokken van een stier tot den dekrijpen leeftijd, dan kan men hieruit afleiden, dat elk kalf, bij zijn geboorte reeds aan de vee-

houderij een bedrag aan geld kost, waar de waarde van het jonge product in vele gevallen niet tegen opweegt.

Door de kunstmatige inseminatie is het mogelijk, het aantal stieren aanmerkelijk te beperken en deze beperking dienstbaar te maken aan de verbetering van de gemiddelde kwaliteit van het stierenmateriaal door de minderwaardige dieren uit te schakelen. Het peil van den veestapel kan met weinig kosten worden opgevoerd, omdat ook de kleine veehouder zonder financieele bezwaren gebruik kan maken van een beteren stier, terwijl bovendien de dekinfecties tot het minimum worden beperkt.

Als een bezwaar zou kunnen worden aangevoerd, dat bij de fokkers de prikkel vermindert, om stieren op te fokken, zoodat het materiaal, waaruit geselecteerd wordt, kleiner zal worden. Dit is inderdaad niet denkbeeldig, doch de vooraanstaande fokkers zullen dien prikkel ongetwijfeld behouden, daar de kopstieren door de betere exploitatie een grootere waarde zullen vertegenwoordigen.

Het duurt vrij lang, eer bij stieren gegevens bekend zijn over fokprestaties en meermalen komt het voor, dat een bestfokkende stier, reeds vóór het bekend worden van die gegevens, is uitgevoerd of naar de slachtbank is verwezen. Zoo is het bijna regel, dat een preferente stier op het moment van de preferentverklaring niet meer in functie is. Wanneer dit wel het geval is, dan wordt veelal zooveel van de dieren gevegd, dat bevruchting en conditie er zeer onder lijden. De exploitatie van dergelijke dieren zou eerst dan tot zijn recht kunnen komen bij de kunstmatige distributie van het sperma. De verdunningsmethoden blijken zoo te zijn, dat de resultaten niet bij de onverdunde inseminaties achter staan, zoodat met behulp daarmee het aantal nakomelingen van preferente stieren nog aanmerkelijk kan worden uitgebreid.

Reeds eerder is er op gewezen, dat als direct gevolg van het regelmatig verzamelen van het sperma, genoemd mag worden de betere kennis omtrent gedragingen van het sperma niet alleen, doch ook omtrent de steriliteit van de stieren. Regelmatig spermaonderzoek van nieuw gekochte en in

bedrijf zijnde dekstieren is mogelijk geworden en zal moeten worden gepropageerd.

De beteekenis onder abnormale omstandigheden.

Bij voorkomende steriliteit onder het rundvee, hetzij endemisch voorkomende catarrhale endometritis of andere infecties van het geslachtsapparaat, die door den coitus worden overgebracht (*trichomonas*), is de kunstmatige bevruchting een krachtig hulpmiddel ter voorkoming van de uitbreiding. Dit is een zaak van groote economische beteekenis. Naast mond- en klauwzeer, besmettelijk verwerpen, mastitiden en tuberculose, is de endemische steriliteit één der grootste plagen van de veehouderij. Jaarlijks eischt zij groote sommen op wegens verminderde melkopbrengst, verlies in fokwaarde, noodlooze voederkosten en verpleging. Verder wordt het bedrijf ontwricht door het niet voortbrengen van nakomelingen. De minder goede uitkomsten van het veehoudersbedrijf noodzaken alle middelen te beramen, die kunnen meehelpen de inkomsten ruimer te doen worden. Een planmatige steriliteitsbestrijding, met behulp van de kunstmatige inseminatie komt hiervoor zeker niet in de laatste plaats in aanmerking.

Tijdens een mond- en klauwzeerinfectie is het verboden, vee te vervoeren vanaf het besmette of verdachte terrein, terwijl ook vervoer naar dat terrein niet is toegestaan. Beschikt de veehouder, waarvan het terrein is besmet verklaard, niet over een eigen stier, of moet hij gebruik maken van zijn vereenigingsstier, die elders is gestationeerd, dan staat in die periode de bevruchting stil. Hetzelfde is het geval met een vereenigingsstier, die b.v. 150 koeien moet dekken en gestationeerd is op een besmet verklaard bedrijf. Valt die periode, die minstens op zes weken gerekend moet worden, juist samen met den tijd, waarop de meeste dekkingen normaliter plaats vinden, dus in de maanden Mei, Juni en Juli, dan is het voor de bedrijven zeer belangrijk, als het bevruchtingsproces ongestoord voortgang kan vinden. De eenigste manier, waarop dat in dergelijke gevallen kan

gebeuren, is de kunstmatige bevruchting en inderdaad zijn door mij daarbij vele succesvolle inseminaties gedaan.

Verder kan de kunstmatige bevruchting de helpende hand bieden aan kleine veehouders, die niet kunnen beschikken over een eigen stier en waarvan de boerderij zoo gelegen is, dat veevervoer bezwaarlijk is, b.v. over water. Tijdens perioden van vorst is dan de normale bevruchting eveneens uitgesloten. Bestaat er bovendien nog steriliteit in dat gebied, dan worden de moeilijkheden van het vervoer dubbel gevoeld. Een mooi voorbeeld hiervan is Giethoorn.

Opmerking.

Door de dichtheid van den veestapel in Nederland is de organisatie van een bevruchtingssysteem eenvoudiger dan in gebieden, waar de veestapels ver van elkaar verwijderd zijn. Hoe verder de afstand, hoe hooger de onkosten per bevruchtingsgeval zijn. Bovendien ondervindt men bij groote afstanden tusschen de boerderijen het bezwaar van den korten oestrus der koeien. Men is dan vaak niet in staat, tijdig genoeg op de verschillende boerderijen aanwezig te zijn, om de inseminatie op het gunstigste moment te verrichten. Met vervoer gaat dan te veel tijd verloren.

Bij paarden zou de organisatie over groote afstanden gemakkelijker kunnen zijn, daar hierbij de bronstperiode een veel langere is.

Het is te begrijpen, dat de stamboekfokkers met gemengde gevoelens de kunstmatige bevruchtingsmethode beoordeelen.

Ik heb mij tot nog toe afzijdig gehouden van de stamboekorganisaties, daar de 90 % van den Nederlandschen veestapel, die niet in de stamboeken is ingeschreven, mij stof genoeg bood en in de toekomst nog stof genoeg zal kunnen bieden, dit probleem verder uit te werken en te consolideeren.

De vrees van de fokkers, dat er een verminderde afname van stieren zal komen, is inderdaad niet denkbeeldig, doch het zijn juist de *slechte* stieren, die zullen worden uitgeschakeld. Dit zijn in den regel dieren, waarvan de

verkooprijzen kleiner zijn dan de kosten, die er aan besteed zijn. Zij gaan met verlies van de hand en daaraan heeft ook de stamboekfokker geen behoefte.

Er zal steeds vraag blijven naar stieren van goede kwaliteit, terwijl de kopstieren een veel grootere waarde kunnen vertegenwoordigen. Er zal trouwens heel wat moeten gebeuren, eer het mannelijk fokmateriaal met 50 % kan worden verminderd. Bovendien geldt voor den stamboekfokker toch ook in hooge mate het voordeel, dat een zeker aantal fokkoeien, die anders als tijdelijk of blijvend „steriel” worden verwijderd, door deze methode voor de fokkerij kunnen worden behouden.

HOOFDSTUK IX.

Slotconclusies.

1. *De kunstmatige inseminatie is practisch vrij gemakkelijk uitvoerbaar.*
2. *De resultaten met onverdund sperma en met sperma, verdund met glucosephosfaat-verdunner G.P.C.^a (verduunning hoogstens tot 1 op 5), zijn vrijwel gelijk en geven beide een zeer bevredigend bevruchtingspercentage.*
3. *De juiste plaats van inseminatie is de cervix. Alle sperma in de cervix te deponeren verdient de voorkeur. Vloeit een gedeelte terug in de vagina, dan is dit geen bezwaar. Komt alle sperma in den uterus of de vagina terecht, dan heeft dit een zeer nadeeligen invloed op de bevruchting.*
4. *Inseminatie kort na de bronst is mogelijk, mits nog een kleine hoeveelheid slijm in de cervix aanwezig is. Practisch dient men niet later dan 20 uur na het begin van den bronsttijd de kunstmatige inseminatie toe te passen.*
5. *Intensief optreden van wolkenvorming in het sperma onmiddellijk voor de inseminatie geeft vrij groote zekerheid, dat het bevruchtingskrachtig is, ook als het reeds meerdere uren het lichaam van den stier heeft verlaten.*

Is die wolkenvorming verminderd, dan drukt dit het bevruchtingspercentage. Is de wolkenvorming afwezig, dan dient het ejaculaat als niet bevruchtingskrachtig te worden beschouwd.

6. *De kunstmatige inseminatie heeft bij de bestrijding der steriliteit onder het rundvee groote waarde.*
7. *In stallen, waar de catarrhale endometritis endemisch optreedt, heeft de kunstmatige inseminatie geen waarde ter behandeling van reeds geïnfecteerde dieren.*
8. *Het agens, dat verantwoordelijk moet worden gesteld voor het optreden van de catarrhale endometritis, wordt overgebracht door direct contact gedurende den coitus van den geïnfecteerden stier met de koe.*
9. *Het sperma van den geïnfecteerden stier is niet infectieus.*
10. *De verspreiding van de catarrhale endometritis door samenbrengen van zieke koeien bij gezonde, is van ondergeschikte beteekenis.*
11. *De kunstmatige inseminatie heeft waarde ter behandeling van koeien met cervix- en vagina-afwijkingen.*
12. *Kunstmatige inseminatie, na de verzending van het sperma over grooten afstand, is mogelijk.*

LITERATUURLIJST.

1. ALBRECHTSEN J.: Die Unfruchtbarkeit des Rindes, ihre Ursachen und ihre Behandlung 2e Aufl. 1920.
2. BAKER J. R.: A fluid for mamalian sperm suspensions. Quart. Younr. Exp. Physiol. Bd. 20. 1930.
3. CARY W. H.: Examination of semen with special reference to its gynecological aspects. The Amer. Journ. of Obst. Bd. 74. 1916.
4. COWDRY E. V.: General cytologie. University of Chicago Press. 1928 p. 753.
5. DÄTWYLER W.: über die Bewegung der Spermatozoen der Haustiere. Zürich 1918.
6. DIERNHOFER K.: Die spezifische Deckinfection des Rindes und ihre Bekämpfung. W. T. M. Jahrgang 1938. Hf. 1 und 2.
7. EHRHARD H. W.: Beitrag zur Therapie des Uteruskrankheiten des Rindes. Gieszen 1932.
8. ERLER W.: Versuche zur Spermagewinnung bei Hengsten mit der Phantom methode. Hannover 1935.
9. FREI W.: Zur Pathologie und Therapie der Sterilität der weibliche Haustiere mit besondere Berücksichtigung der Physiologie. Berlin 1927.
10. FREILING O.: Gewinnung und Untersuchung von Samen gesunder und kranker Bullen zum Zwecke der künstlichen Besamung. Gieszen 1935.
11. FUCHS W.: Die Bedeutung der künstlichen Besamung der Rinder für die Bekämpfung der Deckinfectionen. Gieszen 1936.
12. GÖTZE R.: über die neuen russischen Methoden der künstlichen Besamung bei Haustiere. Dtsch. Tierärz. Wschr. 1933.
13. GRAY J.: The effect of dilution on the activity of spermatozoa. Brit. Journ. Exp. Biol. Bd. 5. 1928.

14. HAMMOND J. AND ASDELL S. A.: The vitality of the spermatozoa in the male and female reproductive tract. *Brit. Jour. Exp. Biol.* Bd. 4. 1926.
15. HEAPE W.: The artificial insemination of mammals and subsequent possible fertilisation or impregnation of their ova. *Proc. Roy. Soc.* Bd. 61. 1897.
16. HEAPE W.: Artificial insemination of mares. *Veterinarian* Bd. 71. 1898.
17. HESS E.: Sterilität des Rindes; ihre Erkennung und Behandlung. Hannover 1920.
18. HUTT F. B.: On the relation of fertility in fowls to the amount of testicular material and density of sperm suspension. *Proc. Royal Soc. of Edinburgh.* Vol. 49. 1928—29.
19. IVANOV E.: De la fécondation artificielle chez les mammifères. 1907.
20. IVANOV E.: Zur Frage der Energetik der Spermatozoenbewegung. 1931.
21. IVANOV E.: On the use of artificial insemination for zootechnical purpose in Russia. *Journ. Agric.* 1922.
22. IVANOV E.: Artificial insemination of mammals: Scientific and zootechnical method. *Veter. Rec* 1930 no. 10.
23. IVANOV E.: Die künstliche Befruchtung der Haustiere. Hannover 1912.
24. IVANOV E.: Zur Frage der Energetik der Spermatozoenbewegung. *Z. Züchtg.* 1931. Bd 20.
25. MC. KENZIE F. F.: Boar semen studies. *Oroc. of the Am. Soc. of An. Prod.* 1936.
26. KNAUS H.: Zur Physiologie der Spermatozoen. *Arch. f. Gynäkol.* 151.
27. KUSNETZOWA N., MILOWANOW V., NEUMANN O., NAGAEV V., SKATKIN P.: The artificial insemination in the cattle and sheep (Russisch).

28. KüST: Die Trichomonadensterilität des Rindes und ihre Bekämpfung. Dtsch. Tierärztl. Wchschr. 1936.
29. KüST: Die künstliche Besamung des Rindes. B.T.W. 1936.
30. KüST: Künstliche Besamung des Rindes. 13e Internationaal Veeartsenijk. congres Zürich-Interlaken 1938.
31. LAGERLÖF N.: Morphologische Untersuchungen über Veränderungen im Spermabild und in den Hoden bei Bullen mit verminderter oder aufgehobener Fertilität. Uppsala 1934.
32. LILLIE F. R.: Problems of fertilisation. University of Chicago Press. 1928.
33. LUND T.: Versuche zur Spermagewinnung bei Bullen mit der künstlichen Vagina im Phantom. Hannover 1936.
34. MIESCHER F.: Die Spermatozoen einiger Wirbeltiere. Ein Beitrag zur Histochemie. 1873.
35. MILLER F. W. AND EVERETTE: Technique for obtaining spermatozoa for physiological dairy studies and artificial insemination. U. S. Govern. Pr. Off. 1934.
36. MILOVANOW V. EN SELIVANOVA O.: Dilutors for sperm. (Ref. in Imper. Bur. of animal genetics An. Br. Abstr. October 1933.)
37. MULDER S. R.: Over willekeurige beïnvloeding van de geslachtsverhouding. Utrecht 1935.
38. PARKER G. H.: The passage of spermatozoa and ova through the oviducts of the rabbit. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Bd 27. 1930.
39. POLLMACHER F.: Versuche zur Spermagewinnung bei Bullen durch Massage der Samenleiterampullen. Hannover 1936.
40. REDENZ E.: Versuch einer biologischen Morphologie des Nebenhodens. Arch. f. mikr. Anat. u. Entw. Bd 103. 1924.
41. REDENZ E.: über den Spaltungsstoffwechsel der Säugertierspermatozoen in Zusammenhang mit der Beweglichkeit. Biochem. Z. 257. 1933.

42. RETZIUS G.: Weitere Beiträge zur Kenntnis der Spermien des Menschen und einige Säugetiere. 1902.
43. REYNOLDS E.: Fertility an serility. Journ. of the Amer. Med. Ass. 1916. Vol 1916.
44. RICHTER J.: Die Sterilität des Rindes. Berlin 1938.
45. ROEMMELE O.: Biologische und physiologische Untersuchungen am Sperma und am Scheidensekret des Rindes im Hinblick auf die künstliche Besamung. Zool. Jahrb. Abt. F. allgem. Zool. und Physiol. Bd 44.
46. SACK A. UND AMERBACH R.: Das Verhalten der menschlichen Spermien gegen Farbstoffe in seiner Bedeutung für die Beurteilung der männlichen Sterilität. Münch. med. Wochenschr. 1930 Bd 77.
47. SANDERS H. G.: On the fertility of stallions. Journ. of Agr. Sc. Vol. 16. 1926.
48. SCHMALTZ R.: Die Struktur der Geschlechtsorgane der Haussäugetiere. Berlin 1912.
49. SCHÖTTLE R.: Zur Physiologie des Schafbockspermas. Leipzig 1936.
50. SCIUCHETTI A.: Untersuchungen über die Fruchtbarkeit einiger männlicher Zuchtrinder. Zeitschrift f. Tierz. und Züchtungsbiologie Bd XLI. Heft 2. 1938.
51. SIMS: Nots cliniques sur la chirurgie utérine. Paris 1866. de la génération des animaux et des plantes. Genève 1875.
52. SPALLANZANI L.: Expérience pour servir à l'histoire de la génération des animaux et des plantes. Genève 1875.
53. STOLZ H.: Beitrag zur Kenntnis der Deckinfektionen des Rindes und deren Bekämpfung. Gieszen 1936.
54. TEICH A.: Untersuchung des künstlich gewonnenen Spermas von Schlachtbullen. Hannover 1936.

55. TOIVOLA-VAINO. Untersuchungen über die Färbefeverfahren für Spermatozoen des Bulles und Ebers, ins besondere über die jenigen nach Straszmann, Hayen, Retzius und Möller-Thoms. Leipzig 1931.
56. VEENBAAS A. H.: Diagnostiek en bestrijding van de abortus Bang in Friesland. 1935.
57. Verslagen en mededeelingen van de directie van landbouw 1937.
58. WALTON A.: The technique of Artificial Insemination. London 1933.
59. WEBER H.: Zur Physiologie des Bullenspermas. Leipzig 1936.
60. WESTER J.: Eierstok und Ei. Befruchtung und Unfruchtbarkeit bei den Haustiere. Berlijn 1921.
61. WESTER J.: Onvruchtbaarheid bij bokken. T. van Diergeneesk. 1915.
62. WILLIAMS W. L.: The diseases af the genital organs of domestic animals. Ithaca N.Y. 1921.
63. WILLIAMS W. W. AND SAVAGE A.: Observations on the seminal micropathologie of bulls. The Cornell vet. 1925 Vol. 15.
64. YAMANE J.: Studien über die physikalische und chemische Beschaffenheit des Pferdespermas mit besonderer Berücksichtigung der Physiologie der Spermatozoen. Jour. Coll. Agric. Hokkaido Bd 9. 1921.

STELLINGEN.

I.

Het is van belang, dat een onderzoek wordt ingesteld naar het voorkomen van abortus suis Bang infectie in ons land.

II.

Bij de tuberculosebestrijding dient de cavia proef meer op den voorgrond te komen.

III.

Het verdient aanbeveling, bij de tuberculosebestrijding de intradermale tuberculinatie in te voeren.

IV.

Omtrent de behandeling van de fistuleuze purulent-necrotiseerende ontsteking van het klauwgewricht bij het rund is een spoedige exarticulatie het meest aan te bevelen.

V.

Bij het onderzoek naar het ontstaan van de geslachtsreuk bij cryptorchiden dient aandacht te worden geschonken aan het smegma in het praeputium.

VI.

Het is gewenscht, dat van stamboekzijde geenerlei belemmeringen in den weg worden gelegd bij de kunstmatige inseminatie met sperma van preferente stieren.

VII.

Bij de therapie van endemische steriliteit onder het rundvee is de behandeling van den uterus met Solutio Lugoli te prefereren boven de behandeling van de vagina met vaginaal capsules, pyoplaatjes enz.

VIII.

Bij de bestrijding van trichomonas infectie in ons land dient de kunstmatige inseminatie in de geïnfecteerde gebieden te worden toegepast.



