



WAGENINGEN UR
For quality of life

Conservering van sperma van zes Nederlandse zeldzame kippenrassen

Inhaalslag 2

C.A. Zuidberg¹, H. Woelders¹, H. Sulkers¹, A. Boks² en S.J. Hiemstra¹



¹ Centrum voor genetische Bronnen Nederland (CGN) van Wageningen UR

² Stichting Zeldzame Huisdierrassen

© 2006 Wageningen, CGN/Stichting DLO

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van CGN/Stichting DLO.

Exemplaren van dit rapport kunnen bij de (eerste) auteur worden besteld.

Centrum voor Genetische Bronnen Nederland

Adres : Edelhertweg 15, 8219 PK Lelystad
: Postbus 65, 8200 AB Lelystad
Tel. : +31 320 23 82 38
Fax : +31 320 23 80 50
E-mail : kees.zuidberg@wur.nl
Internet : www.cgn.wur.nl/AnGR

Woord vooraf

Dit project is uitgevoerd door het Centrum voor Genetische Bronnen Nederland (CGN van Wageningen UR) te Lelystad in nauwe samenwerking met een vertegenwoordiger van de Stichting Zeldzame Huisdierrassen, die als intermediair fungeerde naar fokkers / eigenaren van de hanen. Zonder de medewerking van de fokkers en leden van de rasverenigingen van de betreffende pluimveerassen en de bereidwilligheid om hun fokdieren af te staan had dit project niet kunnen slagen. Ook de betrokkenheid en inzet van de biotechnische medewerkers van de stofwisseling- en klimaataccommodatie van De Animal Sciences Group van Wageningen UR is van groot belang geweest voor het welslagen van het project.

Inhoudsopgave

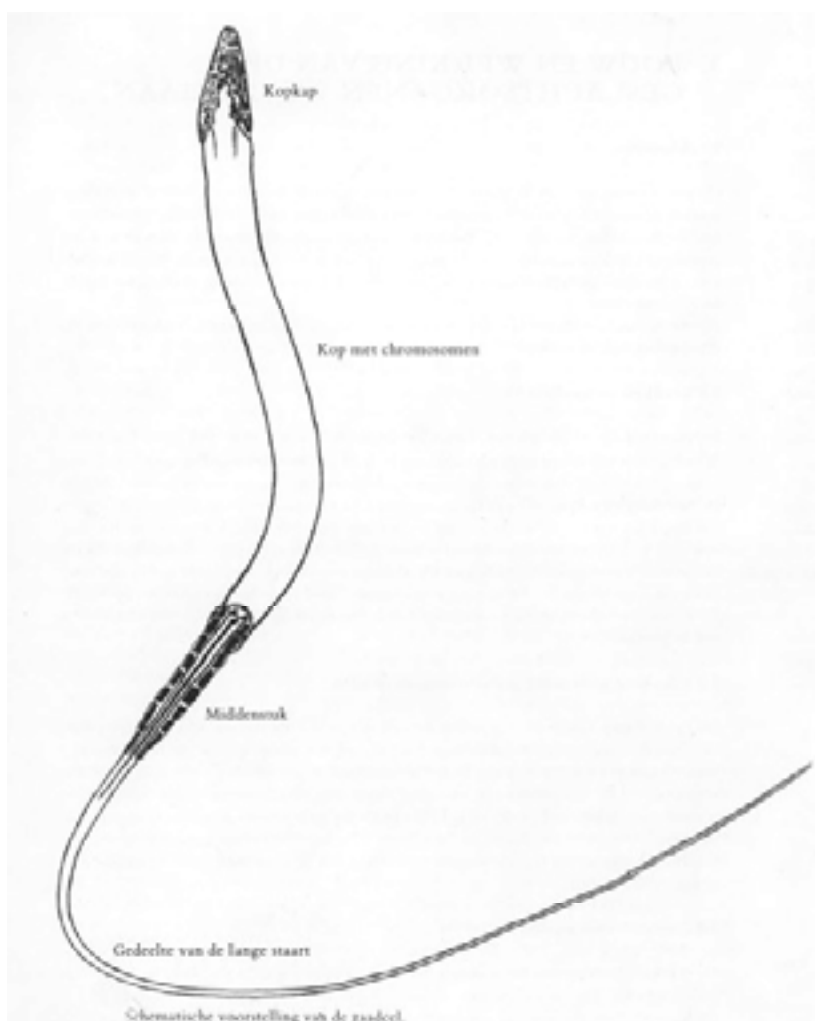
Pagina

Samenvatting	1
1. Inleiding	2
2. Selectie en behandeling van de hanen	2
2.1 Selectie van rassen en hanen	2
2.2 Aanvoer van hanen	3
2.3 Huisvesting en verzorging	3
2.4 Registratie en identificatie	3
2.5 Afvoer hanen	4
2.6 Gezondheidscontrole hanen	4
3. Spermawinning en spermaverwerking	6
3.1 Materialen en methoden	6
3.2 Training spermawinning	6
3.3 Dagplanning spermawinning	6
3.4 Winning van sperma	6
3.5 Voorbereiding en aanlevering	7
3.6 Spermaverwerking	7
3.6.1 Onderzoek	7
3.6.2 Invriesprotocol	7
3.6.3 Opslag en registratie	8
4. Resultaten	9
5. Discussie en conclusies	9
5.1 Conserveringsdoelstellingen	9
5.2 Rasverschillen	10
5.3 Opmerkingen	10

Samenvatting

Naar aanleiding van de uitbraak van het Aviaire Influenza virus (AI) is na de eerste 'inhaalslag' in 2003 in 2005 weer een project opgezet om te komen tot het verzamelen van genetisch materiaal van een aantal hanen van zeldzame kippenrassen (inhaalslag 2). Het doel van het project is om (de genetische variatie van) deze (kleine) rassen veilig te stellen in de genenbank. Met een bedrag, door LNV beschikbaar gesteld voor het project, kon voor de tweede maal worden gestart met een beperkt aantal deels nieuwe rassen. In samenwerking met de Stichting Zeldzame Huisdierrassen heeft een analyse plaatsgevonden van de Nederlandse pluimveerassen en is een zestal rassen geselecteerd waarvan genetisch materiaal is gecryoconserveerd, te weten de Lakenvelder, de Brabanter, het Fries Hoen, de Kraaikop (Bredase), het Nederlandse Baardkuifhoen en de Hollandse Kriel. De Hollandse Kriel was ook al in de eerste inhaalslag van 2003 meegenomen, maar is in inhaalslag 2 wederom meegenomen vanwege de geringe productie van deze (kleine) dieren.

Van elk van deze rassen zijn respectievelijk 8, 10, 12, 11, 11 en 9 hanen aangevoerd. Van de Kraaikop en de Lakenvelder heeft één haan geen sperma geleverd. In totaal zijn 4800 doses sperma ingevroren en in de genenbank weggezet. De doelstelling om van elk ras minimaal 800 doses sperma in opslag te hebben is bij de Brabanter, de Kraaikop en de Nederlandse Baardkuif gehaald. Bij de Lakenvelder en het Fries Hoen is dit bijna gerealiseerd, terwijl de Hollandse Kriel wederom een zeer geringe spermaproductie liet zien. Slechts 273 doses sperma konden bij de 9 hanen van dit ras worden gemaakt.



Spermacel van een haan

("Van Voorst en Leenstra")

1. Inleiding

Het Ministerie van LNV heeft per brief van 29 juli 2003 na de uitbraak van Aviaire Influenza (AI) de opdracht verstrekt aan het CGN om te komen tot het veilig stellen van de genetische variatie van diverse rassen pluimvee. CGN heeft voor de conservering van genetisch materiaal (sperma) van pluimvee in de genenbank in 2003 een start gemaakt met een zestal rassen.

Voor dit project was dat jaar een bedrag uitgetrokken voor een zestal rassen met elk 10 hanen.

Voor het jaar 2005 heeft het Ministerie van LNV wederom een bedrag uitgetrokken om een tweede inhaalslag uit te voeren (toekenningsbrief TRCDWK/2004/3137 van 16 november 2004).

De risico status van pluimvee is zowel ten behoeve van het Nederlandse landenrapport over dierlijke genetische bronnen (LNV, 2002) als ten tijde van de uitbraak van AI (2003) geactualiseerd. De AI crisis was voor het Ministerie van LNV aanleiding om Centrum voor Genetische Bronnen Nederland (CGN) te vragen actie te ondernemen om de genetische variatie van bijzondere pluimveerassen veilig te stellen.

In de maand maart 2005 heeft CGN concrete afspraken gemaakt over de planning en inhoud van het project met de Stichting Zeldzame Huisdierrassen en de proefdierfaciliteiten van de Animal Sciences Group in Lelystad, binnen de financiële kaders van inhaalslag 2.

Op basis van het nieuwe beschikbare budget kon weer van ca. 60 hanen sperma worden gewonnen en geconserveerd.

De volgende stappen zijn ondernomen:

1. Prioriteitstelling pluimveerassen voor opname in de genenbank (april 2005).
2. Contractuele afspraken maken en overname van hanen (april-mei 2005)
3. Trainen van hanen en sperma winning (mei-juni-juli 2005)

Na de cryo-conservering van hanensperma in 2003 zijn de tot dan gebruikte protocollen voor het invriezen van hanensperma na nieuwe onderzoeken aangepast. Deze nieuwe protocollen lieten een verbetering zien van de overleving van de zaadcellen na invriezen en ontdooien. Een praktijkproef van november 2004 waarbij hennen zijn geïnsemineerd met diepgevroren sperma gaf zeer goede resultaten in het aantal bevruchte eieren. Deze vernieuwde protocollen zijn toegepast op het hanenproject van 2005.

Half mei zijn de geselecteerde hanen aangevoerd. Na een aantal dagen van acclimatisering van de dieren is het trainen in de tweede helft van mei opgestart. Vanaf 30 mei zijn tot en met 11 juni 19 dagen gebruikt om sperma van de hanen te vangen en te verwerken. Het ingevroren sperma werd per dag opgeslagen in het opslagvat voor Lelystad dan wel in het vat voor de locatie in Utrecht. Op de productie dagstaten zijn alle gegevens per dag weergegeven en digitaal opgeslagen in Cryo-IS. (Cryo Informatie Systeem).

2. Selectie en behandeling van de hanen

2.1 Selectie van rassen en hanen

CGN en de vertegenwoordigers van de Stichting Zeldzame Huisdierrassen zijn overeengekomen dat met cryoconservering van 10 hanen per ras de diversiteit binnen het ras in voldoende mate is vastgelegd. Met minimaal 80 doses sperma per haan zou het ras moeten kunnen worden teruggefokt. De 10 gekozen hanen per ras moeten de variatie binnen het ras vertegenwoordigen. Eventueel kunnen meer dan 10 hanen per ras worden gekozen bij veel kleurslagen binnen het ras en minder dieren bij uniformere kleuring.

Met in acht neming van de eerste conserveringssessie in 2003 zijn weer 6 rassen gekozen op basis van een aantal criteria en de shortlist opgesteld van 10 rassen die in eerste instantie in aanmerking zouden komen voor opname in de genenbank aan de hand van proefschrift "Conservation of Genetic Diversity" H. Eding, 2002 pg. 43-47, Wageningen Universiteit.

De relatieve bijdrage van het ras aan de totale genenpool van pluimveerassen in Nederland is daarbij een doorslaggevend criterium geweest. In eerste instantie werd gesteld dat 50 doses sperma per haan voldoende zekerheid zou geven voor het voortbestaan van het ras. Later is dit veranderd in 80 doses, op basis van aanvullende berekeningen.

De secretarissen van de speciaal clubs van de genoemde pluimveerassen zijn vervolgens door de vertegenwoordiger van SZH benaderd met de vraag om medewerking te verlenen bij de selectie van hanen/eigenaren met als doel zoveel mogelijk variatie binnen het ras aan te leveren.

2.2 Aanvoer van hanen

Het doel was de hanen door CGN te laten overnemen voor 25 Euro per haan. Uiteindelijk zijn net als in 2003 tijdens ophalen van de dieren meerdere dieren te leen aangeboden op uitdrukkelijk verzoek van de eigenaren. Met de betreffende fokkers/eigenaren zijn overeenkomsten gesloten (bijlage 4) inzake overname/leen van hanen voor spermawinning Tabel 1 laat zien hoeveel hanen zijn aangekocht of geleend. Per ras is er nogal wat verschil in de keuze die de fokkers hebben gemaakt, hun hanen verkopen of uit te lenen.

Ras	Verkoop	Leen
Lakenvelder	5	3
Brabanter	3	7
Fries Hoer	10	2
Kraaikop	4	7
Ned. Baardkuifhoer	6	5
Hollandse Kriel	7	2

Tabel 1: Overzicht per ras van de koop/leen keuze

De vertegenwoordiger van de SZH heeft een totaalijst gemaakt met alle dieren, die beschikbaar zijn gesteld voor de spermaproductie. Middels deze lijst is in mei de aanvoer van de hanen door CGN in overleg met de fokkers in drie dagen voltooid. Elke haan is afzonderlijk in daarvoor speciaal bestemde kooien vervoerd per vrachtauto. Op de laatste aankomstdag zijn alle dieren tegelijkertijd gecontroleerd op luis en tegen NCD geënt (sprayen).

2.3 Huisvesting en verzorging

Op de pluimveelocatie van de proefdierfaciliteiten van de Animal Sciences Group te Lelystad zijn alle hanen in een speciale afgescheiden ruimte ondergebracht. De ruimte is voorzien van een klimaatregeling. De temperatuur werd constant op 18 graden Celsius gehouden met een luchtvochtigheid van ca. 55 %. Als daglengte worden 16 uren gehanteerd met 60 % licht.

De dieren zijn individueel gehuisvest in kooien met een afmeting van 100 x 40 x 60 cm.

(L x B x H). Voor de Hollandse Krielen is een speciale fijnmazige kunststof "mat" op het rooster gelegd om voor deze kleine hanen het lopen te vergemakkelijken.

De voeding bestaat uit legmeel. Een open automatisch drinkwatersysteem (drink-cupjes) is aangesloten op elke kooi.

2.4 Registratie en identificatie

Alle kooien, waarin de dieren zijn gehuisvest zijn voorzien van een sticker met de identificatie van het dier. De sticker vermeldt het ras, kleur (-slag) en ringnummer. Tevens is er een totaal lijst gemaakt van alle dieren. Op de laatste dag vóór de afvoer zijn alle dieren afzonderlijk gefotografeerd. De foto's zijn onder vermelding van ras, kleur(-slag) en diernummer digitaal opgeslagen. Op deze wijze zijn alle dieren geregistreerd en geïdentificeerd. Tevens is er van elk dier een bloedmonster genomen middels een spuit en in twee porties verdeeld, te weten in een EDTA buisje en in een serum buisje.

De dag na het fotograferen is een demonstratie georganiseerd voor de eigenaren van de hanen.

Alle leveranciers hebben een uitnodiging gehad om deze demonstratie en excursie bij te wonen. Ca. 20 personen hebben hieraan gehoor gegeven. Gedemonstreerd werd het "melken" van enkele hanen. Door de microscoop kon men het sperma bekijken en beoordelen. Tevens werd van andere diersoorten sperma getoond. Verder werd, onder het genot van een kop koffie, een uiteenzetting gegeven over de genenbank (CGN AnGR) en werd de aanwezigen duidelijk gemaakt het waarom van de cryoconservering van sperma van hun hanen. Na afloop kon men de eigen haan (hanen) weer mee naar huis nemen.

2.5 Afvoer hanen

De afvoer van de hanen werd direct na de demonstratie in gang gezet. Alle aanwezigen namen hun eigen haan (hanen) mee. De volgende dag werden de resterende hanen naar de eigenaren teruggebracht. De gekochte hanen heeft men op diervriendelijke wijze heeft laten inslapen door middel van CO₂ gas.

2.6 Gezondheidscontrole hanen

Alleen klinisch gezonde hanen werden door de eigenaren aangeboden voor transport naar Lelystad (zie bijlage 4, punt 7). Bij aankomst zagen alle dieren er gezond uit met een goed verenkleed.

Op de laatste dag van aanvoer krijgen alle dieren een ingangscntrole. In geval van twijfel kon een dierenarts worden gewaarschuwd. Er zijn geen afwijkingen bij de dieren geconstateerd. Een bewijs van enting van de dieren tegen NCD en/of Pseudo vogelpest is niet als eis gesteld. Wel zijn alle dieren op de laatste dag van aanvoer tegelijk geënt dmv. sprayen.

Eén van de hanen vertoonde medio juni een afwijkend gedrag. Enkele dagen daarna kon hij niet meer staan en eten. Na overleg met de eigenaar is er sectie verricht. Het dier vertoonde een bloeding in het hart. Er was een stolsel te zien bij het atrium.

De resterende hanen zijn in goede conditie gebleven gedurende de periode van spermawinning.



Hollandse Kriel Koekoekpatrijs



Kraaikop Blauw gezoomd



Lakenvelder



Fries Hoen Zilver Pel



Baardkuifhoen zwart



Brabander wit

3. Spermawinning en spermaverwerking

3.1 Materialen en methoden

Bij de winning van sperma van hanen, het zogenaamde hanen melken, worden speciale spermabuisjes gebruikt voor het opvangen van het sperma. Deze gesteriliseerde glazen buisjes zijn voorzien van een wijde bovenrand en hebben een inhoud van ca. 15 ml.

Een klimaatkast is in het voorportaal van de stal geplaatst om de buizen op temperatuur te houden. Als identificatie worden stickers geplakt op de spermabuisjes. Deze stickers zijn voorzien van de nodige informatie van de haan en zijn tijdens het melken van de hanen in de stal aanwezig. Het gevangen sperma wordt door de spermavanger aan de laboratoriummedewerker overhandigd, die m.b.v. een pipet het sperma 1:1 verdund met een speciaal medium voor hanensperma. Het buisje met verdund sperma wordt in een portable koelbox geplaatst. Hierin wordt het verdunde sperma gekoeld tot 5 °C .

3.2 Training spermawinning

Alvorens met de spermaproductie te starten worden de hanen getraind voor spermawinning. De meeste hanen vertonen weinig schrikachtige reacties, wanneer de stal wordt betreden en met de training wordt begonnen. De dieren zijn snel gewend. Van de meeste hanen kon al vrij snel sperma worden gewonnen. Hierdoor kon de trainingsperiode binnen een week worden afgerond en met de eigenlijke spermaproductie worden begonnen.

Bij spermawinning is gebruikelijk dat de haan tussen de arm en het lichaam wordt vastgehouden. Een tweede persoon, de "melker", vangt het sperma op. De haan wordt door deze persoon tot ejaculatie gebracht door enkele malen met de hand over de rug van de haan richting staart te wrijven. Op dat moment is het aan het gedrag van de staart te zien of de haan seksueel actief wordt en tot sperma afgifte komt. Nu is het moment daar om met het (warme) buisje het sperma uit de cloaca-achtige penis op te vangen. Hierbij wordt met de andere hand een licht knijpende beweging gemaakt met twee á drie vingers om de cloaca. Door de druk op de cloaca komt de haan tot ejaculeren. Het sperma wordt opgevangen in het spermabuisje dat vooraf is voorzien van de sticker met een identificatienummer van de haan.

3.3 Dagplanning spermawinning

Bij het plannen van de spermawinning is uitgegaan van de gemiddelde spermaproductie per haan en de mogelijke winfrequentie per week met de doelstelling van het project, ca. 100 doses sperma per dier te produceren. Hiervoor zijn ongeveer 20 dagen van spermawinning nodig om de doelstelling te halen. Het was de bedoeling om van de 60 hanen tweemaal per week, verdeeld over drie dagen sperma te winnen. Dat zou betekenen dat op drie dagen in de week (maandag, woensdag en vrijdag) 40 hanen moeten worden gemolken. Dit in verband met het grote aantal dieren op één dag en de verwerking binnen de dag. (tijdsdruk). Echter na de eerste dag bleek het onmogelijk een aantal hanen NIET te laten dekken. Er was dusdanig veel onrust in de stal om van 40 van de 60 hanen sperma te winnen, dat besloten werd om alle hanen driemaal per week te melken.

Door wat vroeger, ca. 8.15 uur, te beginnen was ook de tijdsdruk minder voor wat betreft de laboratoriumwerkzaamheden. Hierdoor konden bij sommige hanen na een mislukte eerste collectie noch een tweede poging worden gedaan. Om alle zestig dieren te melken zijn ongeveer 1,5 tot 2 uren nodig met twee personen.

3.4 Winning van sperma

Van de 61 hanen is het bij twee hanen niet gelukt om sperma te verkrijgen .Op de spermawinningsdagen hebben gemiddeld 49 van de 59 dieren sperma geleverd voor conservering ten behoeve van de genenbank. (= 83 %). In de andere gevallen kon er geen goed sperma worden gewonnen of was het sperma niet geschikt voor verwerking.

Redenen dat het gewonnen materiaal is afgekeurd zijn:

- onvoldoende hoeveelheid
- vervuiling met mest
- vermenging met bloed
- inactiviteit van de haan
- ziekte (één geval), later voor sectie aangeboden.

In een aantal van bovengenoemde gevallen is bij deze hanen op het eind van de dagsessie weer geprobeerd sperma te vangen. In enkele gevallen kon alsnog een hoeveelheid sperma worden verkregen.

Van één haan van zowel de Lakenvelder als de Kraaikop kon geen sperma worden gewonnen. Deze Kraaikop haan was ziek.

3.5 Voorbereiding en aanlevering

Naast de twee melkers zijn ook twee laboratoriummedewerkers aanwezig in de stal. Deze nemen de geïdentificeerde buisjes met sperma in ontvangst. De buisjes zijn door de spermavanger in de stal voorzien van een etiket. Het op de maatstreepjes van de buis afgelezen volume sperma wordt direct verdubbeld door toevoeging van eenzelfde volume invriesmedium. Deze verdunningsvloeistof wordt op ca. 30 °C. toegevoegd.

De buis met het 1:1 verdunde sperma wordt voorzichtig gemengd (vortex), voorzien van een kurk. De buis met verdund sperma wordt gewogen op een bovenweger en in een portable thermostaat koelbox van 5° C geplaatst. In de computer in een speciaal programma worden de gegevens van de haan, het volgewicht van het buisje en het ledig gewicht (reeds eerder op de buis vermeld!) ingegeven. Na de spermawinning wordt de koelbox met de spermamonsters naar het laboratorium gebracht. De koelbox wordt onderweg aangesloten op de accu van de auto om zoveel mogelijk de koeling van de monsters in stand te houden. Tevens wordt de laptop mee naar het laboratorium genomen. Op het laboratorium worden de monsters direct in de koelwerkbank van 5° C. geplaatst voor verdere bewerking. Voor een optimale overleving van de spermacellen na diepvriezen moeten alle handelingen binnen dezelfde dag worden uitgevoerd.

3.6 Spermaverwerking

3.6.1 Onderzoek

Na de eerste inhaalslag voor het "conserveren van genetisch materiaal van pluimvee", in 2003 is een hernieuwd onderzoek gestart naar methoden voor het verdunnen, koelen en invriezen van sperma van pluimvee. Bij het bedrijf van Nutreco te Herveld zijn de benodigde spermamonsters van hanen verkregen voor deze hernieuwde proeven. Het sperma van pluimvee (vogels) wijkt sterk af van dat van zoogdieren, zowel wat betreft de morfologie van de zaadcellen als overige eigenschappen van het sperma. De tot nu toe gebruikte procedures voor sperma van pluimvee zijn verbeterd in de periode ná 2003. Met name zijn verbeteringen aangebracht op het gebied van verdunningsmedia, invriesmedia en invriesmethoden. Met deze verbeterde methode is eind 2004 een inseminatieproef uitgevoerd . Hierbij is een aantal hennen geïnsemineerd met zowel "vers" sperma als diepgevroren en ontdooid sperma, beide van dezelfde batch. Deze inseminatieproef gaf een bevruchtingspercentage van de eieren voor het diepvriessperma van 86 % versus 95 % voor vers sperma. Bij de diepvries methode is steeds uitgegaan van het conserveren van sperma in de rietjesmethode. Rietjes zijn van belang voor wat betreft hygiëne en identificatiemogelijkheden. Deze modificatie van de methode is toegepast op de huidige conservering van het hanensperma.

3.6.2 Invriesprotocol

Na een vernieuwd cryogene onderzoek, zoals beschreven in 4.1, is een protocol geschreven "Invriezen van hanensperma". Volgens dit vernieuwde protocol heeft de conservering van het hanensperma plaatsgevonden.

3.6.3 Opslag en registratie

De opslag van het geconserveerde hanensperma gebeurt volgens de zogenaamde rietjesmethode in de vloeibare stikstof (-196 ° C.) Alle rietjes sperma zijn geïdentificeerd met geprinte tekst, te weten ras, kleur, NL-nummer, dier-(ring) nummer en productiedatum. Per dier zijn van elke productiedatum de aantallen doses sperma en de plaats in de opslagvaten geregistreerd. Voor elke haan is gekozen voor een unieke kleur van het rietje. Voor de identificatie van doses sperma en opslagplaats is een numeriek systeem gehanteerd; te weten een vat-, beugel- en beker nummer. Het sperma zit in dezelfde bewaarvaten opgeslagen als het sperma van de eerste sessie uit 2003.

Evenals de vorige conservering van het hanensperma zijn ook nu de rietjes opgeslagen in de twee vaten, "Lelystad en Utrecht". De laatste is de zogenaamde duplo-genenbank locatie te Utrecht. Om de dag werden de rietjes diepvriessperma opgeslagen in het vat voor Lelystad in het vat bestemd voor Utrecht. De opslag op twee locaties dient als risicospreiding.



Sperma gevangen



Verdunnen 1 : 1



Rietjes printen



Koelbank met buisjes sperma

4. Resultaten

Tabel 2 geeft een overzicht van de spermaproductie per ras en gemiddelde per ejaculaat. Vier van de zes rassen voldoen aan de gestelde aantallen doses diepvriessperma (800), Twee rassen bereiken de 800 doses bijna, terwijl van de Hollandse Kriel onvoldoende doses sperma kan worden weggezet in de genenbank. Duidelijk zijn de verschillen per ras aanwezig. De Brabanter hanen produceren de grootste hoeveelheid sperma per dier, terwijl de Lakenvelders en de Kraaikoppen daar niet veel van afwijken. De Ned. Baardkuifhoen en het Friese Hoen produceren beduidend minder, terwijl de Hollandse Kriel - de naam geeft het al aan – wederom erg kleine hoeveelheden produceert (gemiddeld twee doses per ejaculaat). Het gemiddelde aantal dosis per ejaculaat over de rassen is ruim 5.

<i>Ras</i>	<i>Aantal dieren gepro</i> <i>d</i>	<i>aantal ejaculaten</i>	<i>Spermacelle n per ejaculaat</i> <i>*10⁶</i>	<i>aantal zaadcellen /dosis *10⁶</i>	<i>aantal doses per ejaculaat</i>	<i>aantal doses per ras</i>
Lakenvelder	7	123	1164	194	6.0	740
Brabanter	10	171	1384	195	7.1	1211
Fries Hoen	12	183	572	143	4.0	722
Kraaikop	10	160	1122	181	6.2	992
Ned. Baardkuif	11	172	870	174	5.0	862
Hollandse kriel	9	118	179	78	2.3	273
Totaal/gemiddeld	59	927			5.1	4800

Tabel 2: Gemiddelde spermaproductie en resultaten van het invriezen van hanensperma

De resultaten van het aantal ingevroren doses sperma per haan geven ook duidelijk te zien dat er ook grote verschillen zijn in spermaproductie binnen de rassen.

Het protocol "Invriezen van hanensperma" geeft de werkprocedure aan. Hierbij mag worden verwacht dat het sperma na diepvriezen, gemiddeld een bepaalde kwaliteit heeft. Daarom is de kwaliteit van het hanensperma na vriezen en ontdooien niet per batch nagekeken. Omdat de hoeveelheden rietjes per batch soms zo klein zijn zou de controle er toe kan leiden, dat het aantal rietjes voor sommige batches op nul eindigt.

5. Discussie en conclusies

5.1 Conserveringsdoelstellingen

In 2005 zijn van voornoemde zes zeldzame pluimveerassen 4800 doses sperma opgeslagen in de genenbank. Samen met de eerste conserveringsronde betekent het dat van 11 zeldzame pluimveerassen ruim 7700 doses zijn opgeslagen. In geval van calamiteiten zijn deze elf rassen genetisch zeker gesteld. Van de Hollandse Kriel is het beoogde aantal van 800 doses ook in twee keer nog niet bereikt. Zie tabel 3. In de eerste conserveringsronde werd nog gesteld dat een aantal doses van 50 per haan voldoende zou zijn voor ras veiligstelling. In de tweede sessie is dit aantal bijgesteld naar 80 doses. Dat houdt dus in dat er wordt uitgegaan van minimaal 800 doses per ras voor de genetische zekerstelling van het ras bij calamiteiten.

2003	Aantal doses	2005	Aantal doses
Barnevelder	499	Lakenvelder	740
Drents Hoen	454	Brabanter	1211
Twents Hoen	614	Fries Hoen	722
Ned. Uilenbaard	687	Kraaikop	992
Welsumer	647	Ned. Baardkuifhoen	862
Hollandse Kriel	68	Hollandse Kriel	273
Totaal	2969		4800

Tabel 3: Totale spermaproductie van de elf hanenrassen.

5.2 Rasverschillen

Bij de zes pluimveerassen springt er duidelijk één ras (in negatieve zin) uit voor wat betreft spermaproductie en wel de Hollandse Kriel. Tabel 2 laat zien dat de spermaproductie van de Hollandse Kriel hanen duidelijk achterblijft. Dit heeft enerzijds te maken met het contact met de dieren en de mensen. De haantjes zijn wat banger van aard. Anderzijds is de grootte van de dieren niet in het voordeel. De dieren zijn vrij klein en teer. Massage over de rug van de dieren moet erg voorzichtig te gebeuren. Een en ander voelt nogal bottig en dus kwetsbaar aan. De genitaliën zijn ook moeilijker te manipuleren tijdens het melken. Bij de grotere rassen werden weinig verschillen geconstateerd in het melken, uitgezonderd de hoeveelheid verkregen sperma.

5.3 Opmerkingen

- Ten opzichte van de vorige sessie zijn, zoals werd verwacht, meer hanen te leen aangeboden dan ter overname.
- Tijdens het ophalen van de hanen bij overname van de hanen direct contact met de eigenaren afrekenen.
- Op het moment van binnenkomst van de hanen in de stal zijn de dieren gecontroleerd op en voorbehoedend behandeld tegen luis. Een entbewijs werd niet vereist, met name in deze periode van het jaar zou dat zeer lastig zijn. Wel zijn de dieren geënt tegen NCD en IB met dode entstof en tegen pokkendifterie met levende entstof.
- Op de dag van afvoer zijn de dieren:
 - Bloed getapt voor serum en EDTA (DNA onderzoek). Beide monsters zijn ingevroren
 - Gefotografeerd.
- Voor kleine dieren, met name krielen, zijn in de kooien fijnmazige matten gelegd.
- Er is één zieke haan waargenomen. Dit voorval is aan de eigenaar medegedeeld. Met de eigenaar is overeengekomen om de doodsoorzaak vast te stellen door sectie.
- Er is ruim te voren contact geweest met mensen van de stallen over het gebruik van de stalruimten en de benodigde menskrachten. De samenwerking en de flexibiliteit van alle mensen was prijzenswaardig.
- De verwerking van 60 hanen per dag is voor het laboratorium maximaal. Het vervroegen van het dekschema van de hanen gaf op het laboratorium wat minder werkdruk. Als alle procedures naar wens verlopen en de menskrachten aanwezig zijn, is de verwerking van 60 hanen op één dag maximaal. De ergonomische houding bij een aantal werkzaamheden geeft op het eind van de dag bij sommige medewerkers problemen. Met name het langdurig staan in een bepaalde houding verdient aandacht.
- Onderzoek naar het verbeteren van het invriesprotocol van invriezen van sperma bij pluimvee is voorafgaande aan deze conservering uitgevoerd. Dit heeft geleid tot een nieuwe procedure die is toegepast. Inseminatieproeven bij hennen met diepgevroren sperma van hanen, geconserveerd volgens deze laatste procedures gaven zeer goede resultaten in het aantal bevruchte eieren (86%).
- Momenteel zijn van elf zeldzame kippenrassen de genen zeker gesteld. Het verdient aanbeveling te evalueren in hoeverre nog andere rassen in aanmerking moeten komen voor conservering ex situ. Het rapport van Hedding, "Conservation of Genetic Diversity" H. Eding, 2002 pg. 43-47, Wageningen Universiteit, kan hierbij behulpzaam kunnen zijn.