

ALTERNATIEVEN VOOR DODING ÉÉNDAGSKUIKENS

technologische perspectieven en ethische consequenties

In opdracht van het Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit

Lelystad, 1 maart 2007

dr. Henri Woelders, prof.dr. Frans W.A. Brom en dr.ing. Hans Hopster

Animal Sciences Group van Wageningen Universiteit & Research Centrum

Inhoudsopgave

Samenvatting	4
I Ethische overwegingen	4
II Technologische perspectieven	5
1. Over het 'niet-doden' van ééndagskuikens	7
2. Het dier als object van morele zorg	7
3. Contouren van een ethisch kader	8
3.1 Het dierenwelzijn is in het geding	9
3.2 De levensspanne van het dier	9
3.3 Het dier als bijproduct van intensieve veehouderij	10
3.4 Menselijke gezondheid	10
3.5 Dierlijke integriteit	11
3.6 Natuurlijkheid	11
4. Een diagnostisch kader, geen beoordelingskader	12
5. Algemeen: geslachtsontwikkeling in vogels	13
6. Kort overzicht van mogelijke alternatieven voor het doden van ééndagskuikens	14
6.1 Ingedeeld naar fase van ontwikkeling en biologisch mechanisme	14
6.2 Ingedeeld naar aard van het ingrijpen	15
7. Methoden zonder genetische modificatie	15
7.1 De hen legt alleen vrouwelijke (ZW) eieren.	15
7.2 In ovo gender sorting in vers gelegde eieren	16
7.3 In ovo gender sorting tijdens vroege embryonale ontwikkeling	17
7.4 Natuurlijke letale allelcombinaties in kruisingsschema's gebruiken	17
7.5 In ovo gender sorting tijdens latere embryonale ontwikkeling	18
7.6 Sex reversal	18
8. Methoden met genetische modificatie	19
8.1 Inbrengen vroege expressie green fluorescing protein → In ovo gender sorting in vroege embryo's	19
8.2 Inbrengen 'Meiotic drive' factoren → asymmetrische segregatie Z en W in oogenese of falen ontwikkeling van Z eicellen.	19
8.3 Inbrengen dosisafhankelijk letaal gen op het Z chromosoom, of letale factor op een willekeurig chromosoom met een compensatie op het W chromosoom	19
9. Haalbaarheid en wenselijkheid van de mogelijkheden, en aanbevelingen voor vervolg	20
9.1 Wenselijkheid (voordelen) van een aantal mogelijkheden	20
9.2 Aanbevelingen	20
Appendix	22
1. Afwijkingen van neutrale geslachtsverhouding in het algemeen	22
2. Afwijkingen van neutrale geslachtsverhouding; In vogels	23
3. In ovo geslachtsdiagnose	24
4. Sex reversal	25
Geraadpleegde literatuur ethisch kader	27
Literatuurverwijzingen technologische alternatieven	28

Samenvatting¹

I Ethische overwegingen

Op economische gronden worden in Nederland jaarlijks tientallen miljoenen eendagshaantjes gedood, ook in de scharrel- en biologische houderij. Dat is een moreel probleem. Beter lijkt het als de betrokken kuikens nooit geboren worden, of zelfs nooit ontstaan. Maar de ingrepen die daarvoor nodig zijn, hebben zo hun eigen bezwaren.

Het centrale en minst omstreden begrip in de discussie over onze omgang met dieren is al sinds een kwart eeuw de *intrinsieke waarde* van het dier: dieren, inclusief hun gezondheid en welzijn, zijn omwille van zichzelf beschermingswaardig. Maar wat dat betekent dat wanneer zich nieuwe mogelijkheden voordoen, zoals geslachtsbeïnvloeding bij hennen? Vele aspecten spelen een rol en de vraag blijft steeds: wat weegt zwaarder, wat is erger?

Zulke oordeelsvragen zijn te moeilijk om binnen het bestek van een gegeven onderzoek bevredigend te beantwoorden. Dus beperken wij ons tot een systematische diagnose van problemen en overwegingen die een rol spelen. Het gaat daarbij zowel om de kwaliteiten van de noodzakelijke handelingen zelf, als ook om de gevolgen voor het welzijn van dier en mens (respectievelijk intrinsieke en extrinsieke overwegingen). Daarnaast is er het onderscheid tussen concrete gevallen, zoals het doden van een haantje, en het algemene verschijnsel waarvan dat een voorbeeld is. Dit noemen wij inherente, respectievelijk paradigmatische overwegingen. Al met al leidt dat tot zes te overwegen proposities.

1. het dierenwelzijn: Seksen is traumatisch, en zeker handmatig seksen. Het leidt tot een uitval van enkele procenten. Ook het doden van de aangewezen dieren is problematisch. Zelfs perfect pijnloos doden wordt (in de wet op de dierproeven) als gering ongerief beschouwd.
2. verspilling: Pasgeboren dieren doden, riekt naar verspilling. Productiedieren dienen tot productie te komen, maar dat redden eendagskuikens niet. Geldt dat evenwel ook als ze als voer voor slangen en dergelijke gebruikt worden? En op welk moment in de embryonale ontwikkeling ontstaat dit probleem? Hoe vroeger de ontwikkeling stopt, hoe beter?
3. de dood als exponent: Het sterven van eendagshaantjes is slechts een exponent van de vigerende houderijsystemen, waarin het dier slechts een wil- en gevoelloze productie-eenheid is, die degenen die erin werken afstompen, en zo het echte morele probleem vormen.
4. menselijke gezondheid: Het hongerspook is in de westerse wereld vervangen door dat van de nieuwe, onbekende voedseltechnologieën. Dit soort discussies gaat het domein van de wetenschap te boven, en includeert de werelden van politiek en risicobeleving.
5. dierlijke integriteit: Het dier als zodanig is een gegeven. Wie als mens in de eigenschappen ervan ingrijpt, tast de integriteit ervan aan en draagt daar verantwoordelijkheid voor. Zulk ingrijpen wordt steeds gevoeld als een kwaad, dat evenwel soms te rechtvaardigen is. Hoe dieper wordt ingegrepen, hoe zwaarder een en ander weegt.
6. natuurlijkheid: Natuurlijkheid is in het geding als een nieuw deel van de werkelijkheid binnen het maakbare wordt getrokken. In zijn bruikbaarste vorm wijst het begrip op een maatschappelijk onbehagen over de totale (bio-)technologische beheersing van dieren. Houdt onze omgang met dieren niet meer in dan een eenvoudige gebruikersrelatie, en is complete beheersing wel nastrevenswaardig?

Deze zes proposities vormen een maatschappelijk discussiekader dat scherpere vragen kan opleveren, maar leiden niet tot een oordeel. Daarvoor zij ze te tentatief geformuleerd, terwijl ook de onderlinge gewichtsverhoudingen niet gedefinieerd zijn.

De haantjeskwestie leent zich bij uitstek voor een bredere maatschappelijke discussie met algemenere implicaties, omdat ze mensen emotioneel raakt, zich ook uitstrekt tot minder intensieve houderijvormen als de scharrel- en de biologische sector, en ook de meeste vegetariërs aangaat, die immers wel eieren eten. Aansluiting zou kunnen worden gezocht bij het Rathenau Instituut en de aan de WUR ontwikkelde 'ethical toolbox'.

¹ Dit is een journalistieke samenvatting die door de auteurs is gecontroleerd op inhoudelijke onjuistheden. Voor de weergave en formuleringen zijn de auteurs echter niet verantwoordelijk.

II Technologische perspectieven

Net als bij mensen is de man/vrouw geboortecijfer bij vogels ongeveer 50/50. Daarom wordt in de leghensector dagelijks de helft van alle eendagskuikens, de mannetjes, gedood. Liever zou men zien dat er naar verhouding minder hanen ter wereld kwamen, of zelfs geen. Dat doel is in principe langs vier wegen te bereiken.

1. Ingrijpen bij de oögenese: De eerste en technisch gezien elegantste oplossing is te zorgen dat er alleen vrouwelijke embryo's ontstaan. Net als bij zoogdieren hangt bij vogels het geslacht af van een ongelijksoortig paar geslachtschromosomen, Z en W, analoog aan het bekende paar XY bij zoogdieren. Maar anders dan bij zoogdieren zijn bij vogels de vrouwtjes heterogameet (ZW) en de mannen homogameet (ZZ). Hoe de geslachtschromosomen vervolgens de geslachtsontwikkeling aansturen, is niet helemaal bekend, maar het zijn in elk geval de hennen die het geslacht van embryo's bepalen. Er zijn goede aanwijzingen dat hennen aangezet kunnen worden tot het voornamelijk of misschien zelfs uitsluitend aanmaken van eicellen met een W-chromosoom, zodat veel minder vaak of zelfs nooit een mannelijk ZZ-embryo ontstaat.

2. Selectieve sterfte tijdens de vroegste embryonale ontwikkeling: Door selectie of door genetische modificatie zouden zodanige (bestaande) genetische varianten bijeengebracht kunnen worden, dat alle ZZ-embryo's al in een vroeg stadium afsterven, maar vrouwelijke ZW-embryo's niet. Er worden evenveel bevruchte eieren gelegd als nu, maar de helft daarvan leidt niet tot een kuiken.

3. Wegsorteren tijdens de embryonale fase: Als we het geslacht van kuikens al in het ei kunnen bepalen, kunnen we de mannelijke exemplaren vroegtijdig laten afsterven door het broeden te stoppen. Dit kan nu door oestradiolmeting vanaf dag dertien, op allerlei manieren kan dat wellicht eerder worden. Is dag nul haalbaar, dan kunnen de te elimineren ZZ-eieren nog waarde hebben voor de productie van industrieel eiwit en eigeel. Een verder voordeel van deze methoden is dat niet in het moederdier of in de soort wordt ingegrepen.

4. Sekseomkering: Bij vogels blijken mannelijke ZZ-kiemcellen functionele eicellen te kunnen opleveren. Als we ZZ-embryo's zich in het ei ook tot hennekuikens zouden kunnen laten ontwikkelen, dan zouden die 'hennen' mogelijk ook eieren kunnen leggen. In dat geval zouden ZZ-kuikens dus niet hoeven worden gedood. Anders dan bij veel lagere diersoorten als reptielen, lijkt dit evenwel niet mogelijk door de broedomstandigheden te sturen of langs hormonale weg. Er is een kleine kans dat selectie van natuurlijke sekseomkeringsmutanten mogelijk is, of dat zulke mutanten langs de weg van genetische modificatie verkregen kunnen worden.

De benaderingen hebben gemeen dat er geen eendagskuikens meer gedood hoeven worden, en dat geen welzijnsaantasting en uitval van kuikens meer optreedt ten gevolge van seksen. Maar verder hebben ze ten opzichte van de bestaande situatie elk hun eigen voordelen. Voor de eerste drie benaderingen zijn dat de volgende.

1. Als hennen alleen vrouwelijke (ZW) eieren leggen,
 - hoeven geen embryo's af te sterven of gedood te worden;
 - lijdt geen embryo of kuiken eventuele schade door biopsie van embryo's;
 - zijn de helft minder ouderdieren en de helft minder broedmachines nodig.
2. Als ZZ-embryo's door natuurlijke dodelijke allelcombinaties vroeg afsterven,
 - hoeven geen late embryo's of ongeboren kuikens gedood te worden;
 - volstaat de helft van het aantal uitkomstkasten.
- 3a. Als vers gelegde eieren op geslacht gesorteerd kunnen worden,
 - hoeven geen embryo's af te sterven of gedood te worden;
 - is de helft minder broedkasten nodig, omdat alleen vrouwelijke eieren bebroed worden;
 - kunnen de onbebroede ZZ eieren nog waarde hebben voor de eiproductenindustrie.
- 3b. Als mannelijke (ZZ) embryo's vroeg in de ontwikkeling gevonden en gedood worden,
 - hoeven geen ver ontwikkelde embryo's of ongeboren kuikens gedood te worden;
 - volstaat de helft van het aantal uitkomstkasten.
- 3c. Als mannelijke (ZZ) embryo's laat in de ontwikkeling gevonden en gedood worden,
 - volstaat de helft van het aantal uitkomstkasten.

De variant 3a onderscheidt zich kwalitatief van 3b en 3c. Er hoeft niets gedood te worden, er is minder apparatuur nodig en er is veel minder verspilling van levend materiaal. Bij de derde benadering is verder, op een uitzondering na, bovendien geen sprake van ingrijpen in het moederdier of in de diersoort. Bij de andere benaderingen is dat alleen zo wanneer klassieke vormen van selectie blijken te volstaan.

Op korte termijn is waarschijnlijk al enige verbetering mogelijk langs de lijnen van 3c. Met de Amerikaanse Embrex-methode is het in beginsel mogelijk om kuikens in een relatief vergevorderd stadium van ontwikkeling in het ei te 'sexen'. Die methode moet evenwel nog verder worden uitgewerkt.

Voor de meer wensbare varianten en overige benaderingen is vooral fundamenteel onderzoek noodzakelijk naar manieren om de geslachtsverhouding in de gelegde eieren te beïnvloeden – dat dat in beginsel kan, is ook bij kippen aangetoond. In aanvulling daarop, of in plaats daarvan, is onderzoek nodig naar de recentelijk geconstateerde en aanzienlijke hormonale verschillen tussen de dooiers van mannelijke en vrouwelijke eieren (dus niet tussen embryo's), om manieren te ontdekken voor zeer vroege embryoselectie. Het vermoeden is dat beide verschijnselen op hetzelfde biologische mechanisme berusten. Het gaat hier om een strategische investering die meerdere jaren zal vergen.

1. Over het 'niet-doden' van ééndagskuikens

Haantjes leggen geen eieren. Haantjes van legrassen zijn economisch niet concurrerend te mesten. Daarom worden er in Nederland jaarlijks tientallen miljoenen ééndagshaantjes gedood. Dit probleem beperkt zich niet tot de legbatterij productie. Ook in de (grootschalige) scharrelhouderij en in een groot deel van de biologische legpluimveehouderij wordt met gespecialiseerde kippenlijnen gewerkt. Daarom is het doden van ééndagshaantjes ook in deze sectoren noodzakelijk.

Het doden van ééndagshaantjes roept in de samenleving ethische vragen op. Het massaal doden van zeer jonge dieren omdat hun ontstaan een restproduct is van de wijze waarop onze dierlijke productie zich ontwikkeld heeft, roept maatschappelijk weerstand op. De vraag die opgeroepen wordt is of het in een verantwoorde omgang met levende wezens past, of het in een verantwoorde dierhouderij past, om zulke jonge dieren zo massaal te doden.

Een manier om de bezwaren tegen dit massale doden tegemoet te komen, is om te proberen met behulp van technologisch ingrijpen te voorkomen dat deze haantjes ontstaan. "Als ze niet ontstaan, hoeven ze niet gedood te worden, dus zijn de bezwaren tegen het doden weggenomen." lijkt de redenering. Echter ook het technisch ingrijpen dat het ontstaan van de dieren voorkomt, kan ethische vragen oproepen. De vraag komt op of het middel erger is dan de kwaal. Om die vraag te beantwoorden is het nodig om de impact van de verschillende oplossingsmethoden in kaart te brengen. Deze notitie geeft een eerste schets.

2. Het dier als object van morele zorg

Dieren en de zorg voor dieren staat in de maatschappelijke belangstelling. De confrontatie met individuele dieren in nood leidt tot zorg en ondersteuningsmaatregelen (dierenambulance, dieren alarmnummer) en dierenmishandeling roept grote maatschappelijke verontwaardiging op, men vraagt om zwaardere straffen en om meer justitiële aandacht voor dieren in nood. Nederland staat hier mee internationaal niet geïsoleerd. In de hele westerse wereld is de aandacht voor het leed dat mensen dieren aandoen gegroeid.²

In het Nederlandse debat over de morele normering van menselijke omgang met dieren is *intrinsieke waarde* van het dier een centrale term. Deze term is in 1981 in het debat geïntroduceerd in de Nota 'Rijksoverheid en dierenbescherming'. In deze nota is de erkenning van de 'intrinsieke waarde van het dier' tot uitgangspunt van het dierenbeschermingsbeleid gemaakt. En hoewel deze nota al meer dan 25 jaar oud is, is deze toch zeer actueel. De nota vormt de hoeksteen van het huidige stelsel van dierenbeschermingswetgeving. Zo is niet alleen de Gezondheids- en Welzijnswet voor Dieren op de erkenning van de intrinsieke waarde van dieren gebaseerd, maar ook in de Flora & Faunawet en de Wet op de Dierproeven speelt de erkenning van de intrinsieke waarde een centrale rol. In de Flora en Fauna wet staat het in de pre-ambule en in de Wet op de Dierproeven in artikel 1. Geluiden dat het vorige kabinet de GWWD zou willen aanpassen en daarbij de 'intrinsieke waarde' van dieren terzijde zou willen schuiven, heeft bij veel dierenbeschermingsorganisaties tot grote bezwaren geleid.

Met de term 'Intrinsieke Waarde' probeert de wetgever een soort van uitgangspunt voor de bescherming van dieren te formuleren. Intrinsieke waarde functioneert als een soort consensus/compromis begrip waarin een overlap tussen de meeste benaderingen van de mens-dier relatie wordt gezocht. Met de term wordt geprobeerd twee kernelementen uit de dierenbescherming samen te brengen:

- Dieren dienen omwille van zichzelf beschermd te worden. Dit is een principiële verschuiving. Dierenmishandeling is geen zedenmisdrijf meer. Vergelijk bijvoorbeeld de memorie van antwoord bij de herziening van de dierenbeschermingswetgeving in 1985 waar de minister van Landbouw terugblikkend schreef: "... de artikelen 254 en 455 van het Wetboek van Strafrecht die mishandelingen van dieren strafbaar stellen (...) zijn ondergebracht bij de zedendelicten. Dit hangt samen met de ten tijde van deze artikelen bestaande opvatting dat dierenmishandeling alleen moest worden verboden omdat het de zedelijke gevoelens van de medemens krenkte."³

² Het verdrag van Maastricht beschermt dieren als 'Sentient Beings', dierenbescherming is in de Duitse Grondwet, alle Westerse democratieën hebben dierenbeschermingswetgeving. De discussie is niet of dieren beschermd moeten worden, maar in welke mate.

³ Memorie van Antwoord TK 16447:6, 21.

"Het dierenbeschermingsbeleid zal moeten worden ontwikkeld vanuit de erkenning van de intrinsieke waarde van het individuele dier. Het beleid zal er op gericht moeten zijn het dier zoveel mogelijk te beschermen tegen menselijke handelingen die zijn fysieke en ethologische welzijn aantasten. In de praktijk betekent dit dat mensen zich bij voortduring rekenschap zullen moeten geven van de toelaatbaarheid van hun handelingen met betrekking tot dieren. Het belang van het dier zal in een bewust afwegingsproces moeten worden ingebracht." (p.3)

"De wetten met betrekking tot de natuurbescherming hebben een ander uitgangspunt: de intrinsieke waarde van diersoorten en van levensgemeenschappen staat centraal (ecocentrisch uitgangspunt). (...) De wetgeving en het beleid op het terrein van de dierenbescherming zijn van een andere orde, omdat daarbij de belangen van het *individuele dier* in het geding zijn. De aandacht richt zich daarbij op het dier dat van de mens afhankelijk is c.q. aan menselijke handelingen wordt onderworpen. (...) De keuze voor de intrinsieke waarde van het individuele dier als uitgangspunt heeft tot consequentie, dat de functie van het dier voor de mens (economisch nut, educatieve of recreatieve functie e.d.) daaraan ondergeschikt kan worden gemaakt c.q. daartegen kan worden afgewogen. Deze afweging - zo leren de wetgeving en de praktijk - is een hachelijke onderneming. In ons Westers cultuurpatroon ontkomt men immers nauwelijks aan een antropocentrische interpretatie, waarin het dier veelal de zwakkere partij is." (p.13)

Nota Rijksoverheid en Dierenbescherming (CRM, 1981)

- De Gezondheid en het Welzijn van dieren dienen beschermd te worden en handelingen die Gezondheid en Welzijn negatief beïnvloeden zijn alleen toelaatbaar als het doel van deze handelingen voldoende belangrijk is. Dit komt tot uiting in de 'nee, tenzij'-structuur van GWWD en in de toetsingsprocedure in de WoD.

Het grote probleem van het benoemen van 'intrinsieke waarde van dieren' als moreel uitgangspunt is dat de term verschillende ethische perspectieven samenbrengt, zonder dat hun specifieke verhouding helder wordt gemaakt. Intrinsieke waarde is als het ware een container begrip waar van alles in ondergebracht is (welzijn, integriteit, eigenheid etc). Dit leidt met name bij ethische vraagstellingen die zich op nieuwe terreinen voordoen tot problemen, dit is bijvoorbeeld het geval bij geslachtsbeïnvloeding van hennen.

3. Contouren van een ethisch kader

Het voorkomen van een overschot aan haantjes die op de eerste dag van hun leven gedood zullen worden, lijkt op het eerste gezicht in overeenstemming met 'de erkenning van de intrinsieke waarde' van het dier'. Het is echter niet geheel duidelijk op grond waarvan het problematisch is om ééndagshaantjes te doden. Dit komt door de verschillende argumentelijnen die door elkaar lopen. Om de verhouding daartussen te bepalen is een fundamentele analyse nodig.

Vanuit de onderscheiden argumentatielijnen kunnen de oplossingen verschillend gewaardeerd worden. Echter om de argumentatielijnen te onderscheiden en uit te werken is een fundamentele en meer wijsgerig theoretische bezinning nodig op de vraag waarom en op welke wijze de omgang met dieren ethisch beoordeeld kan worden. Voor een dergelijke bezinning is er echter een grote diversiteit van theoretische aanzetten. Geen van deze aanzetten is voldoende uitgekristalliseerd om als onproblematisch uitgangspunt te kunnen dienen. Voor een ethische *beoordeling* van de verschillende alternatieven is dus een wijsgerig theoretische bezinning nodig die het bestek van deze notitie te boven.

Daarom kiezen wij in deze notitie een andere methode. We kiezen niet voor een *beoordeling* van de verschillende alternatieven, maar voor een *systematische diagnose* van de ethische overwegingen die in de maatschappelijk discussie over het onderwerp een rol kunnen spelen. We ontwikkelen daarvoor een voorlopig en tentatief ethisch kader. Dit doen we langs twee wegen. Allereerst vanuit een verkenning van de problemen die opgeroepen worden door het doden van de ééndagshaantjes. Dit leidt tot drie overwegingen: dierenwelzijn, levensspanne en het dier als bijproduct. Vervolgens voegen wij daar drie overwegingen aan toe, namelijk één overweging die in alle discussies over voedingsproductie een rol speelt (menselijke gezondheid via voedselveiligheid) en twee overwegingen uit de discussie over genetische modificatie van dieren (dierlijke integriteit en natuurlijkheid).

Bij de uitwerking van deze 6 overwegingen zijn twee onderscheidingen cruciaal:

- Sommige overwegingen richten zich tegen de handelingen zelf (het doden, de genetische modificatie), terwijl andere overwegingen zich meer op de gevolgen van de handelingen richten (gevolg voor het dier: welzijn). Dit noemen we het onderscheid tussen intrinsieke en extrinsieke overwegingen.
- Sommige overwegingen richten zich direct op de casus (het doden van ééndagshaantjes, de welzijnsgevolgen van deze handelingen) terwijl bij andere overwegingen de casus meer als voorbeeld gezien wordt. Dit noemen we het onderscheid tussen inherente en paradigmatische overwegingen.

Op basis van deze onderscheidingen kunnen we het volgende schema opstellen. De inhoud van het schema zal duidelijker worden in de bespreking van de 6 overwegingen.

	Intrinsieke overwegingen	Extrinsieke overwegingen
Inherent overwegingen	Integriteit Natuurlijkheid A	Welzijn Levensspanne Menselijke gezondheid
Paradigmatische overwegingen	Dier als bijproduct Natuurlijkheid B	

3.1 Het dierenwelzijn is in het geding

De eerste reden op grond waarvan het doden van ééndagshaantjes een probleem gevonden wordt, is dat door het proces van seksen en doden het dierenwelzijn verstoord wordt.

- Ten eerste kan het seksen van de dieren tot welzijnsproblemen leiden. Met name bij het handmatig seksen van de fokdieren (dit vindt plaats op basis van morfologische verschillen in de cloaca tussen hen- en haankuikens) is er een uitval van enkele procenten. Dit lijkt op een welzijnskwestie te wijzen.⁴
- Ten tweede het eigenlijke doden van de dieren. Dit kan met welzijnsverstoringen gepaard gaan (bijvoorbeeld als bij vergassing dieren langzaam sterven omdat er zuurstof tussen de veertjes blijft hangen, of als het geheel technisch imperfect gebeurt). Maar zelfs als het snel en pijnloos verloopt kan dit toch vanuit welzijn ter discussie gesteld worden: wordt het dier geen welzijn onthouden, omdat het dier geen 'reële' levensspanne heeft gehad (zie voor uitwerking hiervan het volgende kopje). De vraag die daarbij centraal staat is of de dood voor een dier problematisch is. In de dierproefwereld wordt bijvoorbeeld ook het pijnloos doden van dieren als gering ongerief beschouwd.

Vanuit dit perspectief zijn de alternatieven die geen of minder welzijnsverstoring met zich meebrengen een oplossing. Echter omdat de welzijnsproblemen bij het doden van ééndagshaantjes relatief beperkt zijn, rechtvaardigt een dierenwelzijnsbenadering *alleen* de grote aandacht voor dit probleem niet.

3.2 De levensspanne van het dier

Dit brengt ons bij de tweede reden op grond waarvan het doden van ééndagshaantjes een probleem gevonden wordt. Het gaat daarbij om het uitgangspunt dat het doden van zeer jonge dieren extra problematisch is, omdat ze geen tijd van leven gehad hebben. Deze overweging kwam bijvoorbeeld ook naar voren bij het doden van biggen tijdens de varkenspest en bij de 'herodus-premie' van de Europese Unie voor het doden van kalveren.

⁴ Twee opmerkingen: 1) Dit probleem zou ook op treden als de haantjes na het seksen niet gedood zouden worden. 2) De productiedieren worden op basis van hun verenkleed (kleur of veerlengte) gesekt.

Een probleem van deze overwegingen is, dat het zeer moeilijk is om te bepalen wat een 'reële levensspanne' van een productie dier is. Richt dit zich tegen het doden van jonge dieren als zodanig, tegen het doden van pasgeboren dieren of tegen het doden van dieren die nog best iets ouder hadden kunnen worden. In het laatste geval is de meeste dierlijke productie problematisch. Het doden van het dier heeft een gevolg voor de levensspanne; de vraag echter waarom deze problematisch is, wordt in de discussie niet afdoende beantwoord. In de discussie komen twee deelantwoorden voor, die elk hun eigen vragen oproepen:

- Het doden van jonge dieren is problematisch omdat ze niet tot productie gebracht worden. Het behoort bij de kern van dierhouderij om dieren tot productie te houden, dieren als 'afval' vernietigen past daar niet bij, daar zit een element van verspilling in. De vraag die opkomt is echter of dit ook geldt als ééndaghaantjes als gezelschapsdierenvoedsel worden gebruikt (bijvoorbeeld voor slangen).⁵
- Het doden van jonge dieren is problematisch omdat hen een natuurlijke levensspanne wordt onthouden. Dit wordt verder uitgewerkt onder punt 6 ('natuurlijkheid')

Vanuit dit perspectief zijn alternatieven die zich richten op het voorkómen van het ontstaan van haantjes een oplossing. Daarbij moet wel aangetekend worden, dat oplossingen waarbij de ontwikkeling van haantjes in het ei afgebroken wordt, vanuit dit perspectief problematisch gevonden zouden kunnen worden. De vraag die op komt is namelijk, die naar de beschermwaardigheid van het 'dier dat ontstaat' in vergelijking met het reeds ontstane dier. Een mogelijke argumentatieve parallelie met de discussie over de beschermwaardigheid van menselijke embryo's maakt duidelijk dat deze discussie complex kan zijn. Progressie in de analyse van de waarde en de betekenis van 'de natuurlijke levensspanne van het dier' kan ons inziens alleen via fundamenteel onderzoek naar de beschermaardigheid van dieren als zodanig bereikt worden. Voor deze notitie lijkt – in alle voorlopigheid – de pragmatische conclusie dat bij dieren het afbreken van de ontwikkeling van nog zich ontwikkelende dieren in een vroeg stadium minder problematisch is, dan het doden van pasgeboren dieren. Dit omdat in een vroeg stadium er nog geen sprake is van een zelfstandig ontwikkeld levend organisme.⁶

3.3 Het dier als bijproduct van intensieve veehouderij

Een derde reden op grond waarvan het doden van ééndagshaantjes een probleem gevonden wordt, is dat de dieren een bijproduct zijn van een overgeïntensiveerde en rationalistische landbouwpraktijk. Het doden van de ééndagshaantjes is dan op zich zelf niet het grote probleem (mits het welzijnsneutraal gebeurt), maar het probleem bestaat dan in de houding die door dit massale doden zichtbaar wordt. Deze houding is om twee redenen problematisch

- Het probleem is het denkkader waarin dieren in dierlijke productie als productie-eenheden gezien worden, ondanks het feit dat ze levende wezens zijn, met een eigen (intrinsieke) waarde. Het dier als "sentient being" wordt uit het oog verloren. Bij het zoeken naar verdergaande economische rationalisatie wordt geen tot onvoldoende rekening gehouden met het dier, waardoor je op een systeem komt waarin kuikens massaal gedood worden. Het streven naar een zo pijnloos mogelijk doden is dan eigenlijk een vorm van marginaal bijsturen vanuit de opvatting dat we de koers niet drastisch kunnen of willen verleggen.
- Het probleem is de houding die aan het massale doden ten grondslag ligt. Het is niet zozeer het systeem dat problematisch is, maar de afstompende werking van dit doden. Mensen achten dan het op grote schaal doden van ééndagskuikens is problematisch omdat "je iets wezenlijks en kwetsbaars als voedselproductie toch eigenlijk niet kunt overlaten aan een systeem dat zo met jong en kwetsbaar leven omgaat".

Vanuit dit perspectief zijn alternatieven die voortkomen uit de zelfde grondhouding – systematische rationalisering van de landbouw – geen oplossing. Vanuit dit perspectief zou veel eerder gezocht dienen te worden naar oplossingen waarin de dieren een 'zinvol' leven kunnen leiden. Bijvoorbeeld door de ontwikkeling van de dubbeldoel kip, waarbij de haantjes wel vetgemest kunnen worden.

3.4 Menselijke gezondheid

In veel discussies over voedingsproductie speelt altijd de vraag naar de gevolgen voor menselijke gezondheid een grote rol. Met de de toegenomen voedselzekerheid, zijn niet alle onzekerheden over ons voedsel verdwenen. De angst voor honger heeft plaats

⁵ Dit is een reden waarom veel dieren vergast en niet vermalen worden, terwijl vermalen vanuit dierenwelzijn minder problemen oproept.

⁶ Deze formulering maakt al duidelijk dat er een argumentatieve parallel met menselijke embryo's mogelijk is. Een goed onderscheid is pas echt goed te verdedigen op basis van een systematische analyse van de beschermwaardigheid van mensen, de betekenis daarvan voor de beschermwaardigheid van pasgeborenen en ongeborenen en een systematische vergelijking hiervan met de beschermwaardigheid van dieren (in ontwikkeling).

gemaakt voor nieuwe zorgen. Het gaat daarbij onder andere om de zorg voor de bedreiging van voedselveiligheid door nieuwe vaak onbekende technologieën, zoals bijvoorbeeld biotechnologie.

Vanuit dit perspectief is het bij de beoordeling van alternatieven belangrijk in welke mate de methoden die gebruikt worden nog gevolgen hebben voor de producten die in de voedingsketen komen. Elke 'vervuiling' van de voedingsketen, die verbonden is met echte of gepercipieerde risico's voor de voeding, zal een discussie over voedselveiligheid, het voorzorgsbeginsel en de gevolgen op lange termijn oproepen. Omdat deze discussies per definitie niet met wetenschappelijke feiten alleen te beslechten zijn, speelt de ethische vraag hoe met (onbekende) risico's om te gaan een centrale rol.

3.5 Dierlijke integriteit

In de discussie over dierlijke biotechnologie wordt met behulp van de term 'integriteit' aangegeven dat er bij de morele beoordeling van handelingen bij dieren (i.c. dierlijke biotechnologie) meer aan de hand is dan hetgeen met gezondheid en welzijn aan de orde gesteld wordt. Integriteit wordt wel omschreven met behulp van 'heelheid' en 'onaangetastheid'.

Het gebruik van de term integriteit in een biologische context is problematisch, omdat in de biologie continuïteit, ontwikkeling en processen belangrijk zijn. Dit neemt niet weg dat met behulp van 'integriteit' belangrijke morele overwegingen aan de orde gesteld kunnen worden.

Het is daarvoor echter essentieel om te realiseren dat integriteit geen louter beschrijvende term is. Integriteit is een morele term omdat het uitgaat van een toestand waarvan de aantasting moreel problematisch is (heelheid). Integriteitsaantasting is uit de aard van de term moreel negatief en dient gerechtvaardigd te worden. Men kan een bepaalde ingreep pas integriteitsaantasting noemen, als deze begrepen kan worden als een (eventueel te rechtvaardigen) kwaad. Datgene waaraan men integriteit toekent (het dier) verdient respect omwille van zichzelf (vergelijk de discussie over intrinsieke waarde hierboven). Integriteit is daarnaast ook een relationele term omdat de term verwijst naar menselijk handelen (onaangetastheid). 'Integriteit' heeft in een morele discussie alleen betekenis als er menselijke handelingen in het spel zijn. Integriteit wijst rechtstreeks naar de menselijke verantwoordelijkheid voor het object waarvan de integriteit kan worden aangetast.

Vanuit dit perspectief is het bij de beoordeling van alternatieven belangrijk om te bepalen in welke mate ingegrepen wordt in de (ouder) dieren bij voorkomen dat er haantjes ontstaan. Naar mate de ingrepen verder gaan en fundamenteeler in het dier ingrijpen, zijn de ingrepen meer omstreden.

3.6 Natuurlijkheid

Natuurlijkheid komt in morele argumentatie naar voren als met behulp van technologische (of maatschappelijke) ontwikkelingen grote veranderingen op stapel lijken te staan. Natuurlijkheid duidt op als een nieuw deel van de werkelijkheid binnen het 'maakbare' wordt getrokken.

- Een eerste betekenis (*Natuurlijkheid A*) die hieraan gegeven wordt, is dat er op basis van een voorgegeven natuurlijke ordening geprobeerd wordt om grenzen aan dit 'maken' te formuleren. Een deel van de levensbeschouwelijk georiënteerde kritiek op hoogtechnologische landbouw (bijvoorbeeld vanuit biologisch-dynamisch perspectief) is op deze manier te begrijpen. Het probleem met deze redeneertrant is, dat het niet goed lijkt te lukken om aan te geven waarin die voorgegeven orde dan precies bestaat.⁷
- Dit betekent echter niet dat 'natuur' uit het morele gesprek moet worden verwijderd. Een tweede betekenis is ook mogelijk (*Natuurlijkheid B*). Dan wordt met natuurlijkeidargumentaties een gevoel van onbehagen onder woorden gebracht; het gaat om morele intuïties, die door het steeds verder (bio)technologisch beheersen van de biologische Umwelt worden opgeroepen. Met natuurlijkheid wordt in de discussies rond biotechnologie een intuïtie onder woorden gebracht die zich richt tegen het totaal beheersen van dieren. Natuurlijkeidargumentaties verwijzen dan met name naar een onbehagen en een wantrouwen dat door de mogelijkheid van het 'maken' wordt opgeroepen. De achtergrond van dit onbehagen is niet in eerste instantie een technologievijandigheid, maar een besef dat voorbij het technologische maken meer waarden zijn. Technologische ontwikkeling lijkt de mens echter naar een eenzijdige gebruikersrelatie met de biologische omgeving (dier en natuur) te leiden. De vraag of een samenleving waarin de biologische omgeving volledig beheerst wordt wel zo nastrevenswaardig is, wordt met nadruk gesteld. De vraag naar de goede samenleving (en haar relatie met dieren en natuurlijke omgeving) wordt mijns inziens door de

⁷ Zodra natuurlijkheid niet bestaat in een feitelijke (biologische) ordening (bijvoorbeeld omdat deze ook dodelijke ziekten omvat), maar in een specifieke nader bepaalde ordening wordt de discussie 'welke ordening' en vooral waarom. Dan kan 'natuurlijkheid' niet meer als eigenstandige bron voor grenzen aan maakbaarheid fungeren

uitbreiding van de menselijke beheersing van de werkelijkheid opgeroepen. Kortom, natuurlijkhedenargumentaties roepen de noodzaak van morele coördinatie en een moreel gesprek over welke samenleving wij wensen op. Biotechnologische handelingen bij dieren roepen de vraag op welke mens-dier relatie in een 'toekomstige samenleving' zou moeten bestaan.

Vanuit dit perspectief zijn alternatieven die zich richten op het totaal beheersen van het dier en de dierlijke productiesystemen problematisch. Naar mate het systeem meer gepland en bestuurd wordt en naarmate het meer een 'productiesysteem' en minder een 'dierhouderij systeem' is, kan het vanuit dit perspectief bekritiseerd worden. Het probleem is echter dat een gesystematiseerde, grootschalige dierlijke productie in een economische context niet anders kan overleven, dan door het biologisch proces zo goed mogelijk te beheersen.

4. Een diagnostisch kader, geen beoordelingskader

Met de hierboven geschetste 6 elementen hebben wij geprobeerd om een ethisch kader te schetsen. Dit kader kan echter niet functioneren als een beoordelingskader. Hiervoor zijn twee redenen:

- De 6 elementen zijn niet direct toepasbaar. De formulering is tamelijk tentatief.
- De zwaarte van de 6 elementen en hun onderlinge verhoudingen zijn niet bepaald.

Dit betekent niet dat het kader overbodig is. Het kan functioneren als een diagnostisch instrumentarium. Het kan het beleid helpen bij het vroegtijdig opsporen en formuleren van vragen en problemen die opgeroepen kunnen worden door het zoeken naar alternatieven voor het doden van ééndagskuikens. Echter, omdat er geen helder en gedeeld beoordelingskader voorhanden is, is de beoordeling van het zoeken naar technologische oplossingen voor het ontstaan van ééndagshaantjes geen 'bestuurlijk-technische' kwestie. De kwestie van de ééndagshaantjes leent zich uitstekend voor meer participatieve vormen van technologiebeoordeling. Zo zou er parallel aan een technisch ontwikkeltraject een maatschappelijke bezinning gekozen kunnen worden. Het verdient daartoe aanbeveling om mogelijkheden te onderzoeken om bredere groepen in de samenleving te involveren in deze kwestie.

Een bredere discussie over het zoeken van technologische oplossingen voor het doden van ééndagshaantjes kan overigens relevant zijn voor het zoeken naar technologische innovatie in de sector als geheel. De ééndagshaantjes zijn paradigmatisch voor vraagstukken die opkomen in de dierlijke productiesystemen en voor technologische oplossingsstrategieën. Het probleem van de ééndagshaantjes beperkt zich niet tot de 'intensieve veehouderij' maar roept ook problemen op met (grote delen) van de productie van scharrel en biologische eieren. Bij het nadenken over technologische oplossingen, is extensiveren dus niet direct een (makkelijk) alternatief. Het is ook geen probleem dat met een levensstijl verandering opgelost kan worden, omdat het ook voor vegetariërs (voorzover zij eieren eten) een probleem is. Bovendien 'raakt' de haantjescasus mensen, waardoor ze emotioneel bij de vraagstukken van de dierlijke productie worden betrokken. Op die manier is het is een goede casus om maatschappelijke discussie over de rol van technologie bij de toekomst van de landbouw te structureren. (en zonder een aansprekende casus, geen debat).

Als methoden van participatieve beleidsontwikkeling zou men hier kunnen denken aan inhoudelijke burgerpanels, stake-holder bijeenkomsten, publieksjury's en dergelijke. Vanuit de ethiek is het belangrijk om bij de inzet van dergelijke instrumenten systematisch rekening te houden met het probleem van structureren van morele deliberatie. In de uitvoering zou aansluiting gezocht kunnen worden bij het Rathenau Instituut⁸ en de door Wageningen UR ontwikkelde 'ethical toolbox'.⁹

Het diagnostisch kader en de resultaten van de participatieve vormen van technologiebeoordeling kunnen helpen bij het specificeren van de oplossingsrichtingen: onderzoekers en technologie ontwikkelaars kunnen erdoor geholpen worden bij een verdere ontwikkeling van één of meer van de alternatieven voor het doden van ééndagshaantjes.

⁸ www.rathenau.nl

⁹ www.ethicaltools.info

5. Algemeen: geslachtsontwikkeling in vogels

Binnen de gewervelde dieren bestaan verschillende mechanismen voor geslachtsontwikkeling. Bij zoogdieren en vogels komt genetische geslachtsbepaling voor, terwijl bij een aantal groepen reptielen en bij vissen ook omgevingsafhankelijke geslachtsbepaling voorkomt. Diergroepen met genetische geslachtsbepaling, zoals vogels en zoogdieren, hebben verschillend gevormde (heteromorfe) geslachtschromosomen en de geslachtsontwikkeling kan niet of slechts in beperkte mate door middel van externe (natuurlijke of kunstmatig aangelegde) factoren worden beïnvloed. Bij de zoogdieren wordt het geslacht bepaald door de overerving van de geslachtschromosomen X en Y, waarbij de heterogamete combinatie XY een mannetje wordt en de homogamete combinatie, XX een vrouwtje. Bij vogels is dat andersom. Hier is het vrouwtje het heterogamete geslacht (ZW) en het mannetje het homogamete geslacht, ZZ. Tijdens spermatogenese en oögenese worden in de reductiedeling (of meiose) de twee chromosomen van elk chromosoompaar verdeeld over twee dochtercellen. Het vogelmannetje produceert zo uitsluitend zaadcellen met een Z chromosoom, het vrouwtje daarentegen produceert eicellen met een Z of een W chromosoom. Na bevruchting met Z sperma levert dat dan weer een ZZ of een ZW combinatie op. Bij vogels is het dus het vrouwelijke dier, waarin tijdens de meiose het geslacht van de nakomeling wordt bepaald.

Vreemd genoeg is de geslachtsontwikkeling bij vogels nog niet in volledig detail bekend (zie voor review: Smith and Sinclair 2004). Veel genen die een rol spelen in geslachtsdifferentiatie zijn in de evolutie geconserveerd en vinden we ook bij zoogdieren terug. Echter, bij zoogdieren is de 'hoofdschakelaar' voor ontwikkeling tot man gelegen in het Y chromosomale gen 'SRY' dat codeert voor de Testis determining factor (TDF). Dit zet vervolgens een cascade van mechanismen in werking die uiteindelijk leidt tot een mannelijke ontwikkeling. In vogels zou een soortgelijke hoofdschakelaar voor vrouwelijke ontwikkeling gelegen kunnen zijn op het W chromosoom. Een aantal genen op het W chromosoom is geïdentificeerd als kandidaatgenen voor een dergelijke schakelaarfunctie. Echter, het is ook heel wel mogelijk dat in plaats daarvan (of tevens) een hoofdschakelaar voor mannelijke ontwikkeling gelegen is op het Z chromosoom. Enkele genen op het Z chromosoom zijn aangewezen als kandidaatgenen voor een dergelijke schakelaarfunctie.

De controle over de ontwikkeling van de gonaden tot testis of ovarium, en hiermee de geslachtsontwikkeling van het dier, is in vogels minder stabiel dan in zoogdieren, en is gevoeliger voor hormonale manipulatie. In kippen is geslachtsverandering (*sex reversal*) mogelijk door oestrogenen of juist remmers van oestrogeen synthese te injecteren in de eieren (Scheib 1983; Elbrecht en Smith, 1992). Door het inbrengen van een remmer van het enzym aromatase, dat verantwoordelijk is voor oestrogeen synthese, kan een permanente geslachtsverandering van vrouwelijk naar mannelijk worden geïnduceerd. Omgekeerd kan injectie van oestrogenen in ZZ genetisch mannelijke embryo's leiden tot feminisering, maar dit is niet permanent.

Bij een aantal andere 'lagere' groepen gewervelde dieren is de geslachtsontwikkeling nog weer veel minder stabiel dan in vogels en zoogdieren. Bijvoorbeeld in vissen en bepaalde groepen reptielen komt naast genetische geslachtsbepaling ook temperatuursafhankelijke geslachtsbepaling voor. Hierbij kan het moederdier door beïnvloeding van de incubatietemperatuur actief ingrijpen in het geslacht van haar nakomelingen. Bij vogels zijn deze mechanismen niet bekend. Het ziet er niet naar uit dat de mechanismen voor temperatuursafhankelijke geslachtsbepaling nog latent in vogelsoorten terug te vinden zijn. Er lijkt dus weinig kans dat je dergelijke mechanismen in de kip genetisch kunt selecteren.

Ondanks dat de genetische geslachtsbepaling bij vogels relatief stabiel is, en de geslachtsontwikkeling maar weinig omgevingsafhankelijk is, zijn er tal van recente publicaties waarin is aangetoond dat in vogels (ook de kip) een belangrijke verschuiving van de geslachtsverhouding in de gelegde eieren mogelijk is. Bijvoorbeeld in de kip werd door injectie met progesteron een verschuiving van de geslachtsverhouding naar 75% vrouwelijke eieren geïnduceerd. Het mechanisme lijkt te zijn dat de henneghaltes van hormonen of andere factoren in de dooier van de eicel beïnvloedt, en dat hierdoor de segregatie van Z en W chromosomen tijdens de meiose wordt gestuurd. Hierdoor kan de hen een verhoogd percentage eicellen produceren met een W chromosoom (vrouwelijk)

Deze recente publicaties wijzen tevens op significante verschillen tussen vers gelegde mannelijke en vrouwelijke eieren o.a. in de gehalten van bepaalde hormonen.

6. Kort overzicht van mogelijke alternatieven voor het doden van ééndagskuikens

6.1 Ingedeeld naar fase van ontwikkeling en biologisch mechanisme

In het volgende worden eerst kort een aantal mogelijke alternatieven besproken voor het doden van ééndagskuikens. In deze rapportage wordt niet ingegaan op de mogelijkheden de ééndagskuikene een zodanige bestemming te geven, dat ze niet als 'overtollig, te vernietigen' gezien worden. De alternatieven voor doden van het uitgekomen kuiken kunnen worden besproken conform de fase waarin de verandering een rol speelt en de aard van de verandering t.o.v. de huidige situatie.

Huidige situatie

<u>Fase</u>	<u>Ingreep/ verandering</u>
Uitgekomen kuikens	Doden van ZZ ééndagskuikens

Alternatieven

<u>Fase</u>	<u>Ingreep/ verandering</u>
Oogenese	Z eicel wordt niet gevormd
Vroege embryonale ontwikkeling	ZZ embryo's kunnen zich niet ontwikkelen
Vroege tot late embryonale ontwikkeling	ZZ embryo's of kuikens in het ei worden gedood
Geslachtsontwikkeling	ZZ embryo's ontwikkelen zich tot hen

De huidige situatie

In de hen worden haploïde eicellen gevormd en geovuleerd, waarvan ruwweg 50% een Z chromosoom heeft en 50% een W chromosoom. Na bevruchting en embryo-ontwikkeling levert dit circa 50% vrouwelijke kuikens (ZW) en 50% mannelijke kuikens (ZZ). In de leghensector worden de circa 50% mannelijke ééndagskuikens gedood.

Alternatieven

1. Oogenese; Z eicel wordt niet gevormd
De hen produceert uitsluitend W eicellen, en dus ZW (vrouwelijke) embryo's. Er hoeven geen kuikens of embryo's te worden gedood en er treedt geen verlies op van productie. Er is dus sprake van efficiëntiewinst, want je hebt nog maar de helft van het aantal vader- en moederdieren nodig. Er zijn heel recent veel aanwijzingen in de literatuur dat dit mechanisme van beïnvloeding van de geslachtsverhouding door het moederdier inderdaad kan optreden.
2. Vroege embryonale ontwikkeling; Selectieve vroege sterfte ZZ embryo's
Er worden ruwweg 50% ZZ en 50% ZW eieren gelegd, als in de huidige situatie, maar er wordt voor gezorgd dat de mannelijke embryo's 'vanzelf' in een vroeg stadium afsterven. Dit zou kunnen als mutant allelen worden opgespoord die in een kruisingsschema zo kunnen worden samengebracht dat een ZZ embryo in de vroege ontwikkeling afsterft en een ZW embryo zich goed ontwikkelt. Dit zou dan kunnen met natuurlijke, reeds aanwezige genvarianten (allelelen). Het zou in principe ook kunnen d.m.v. genetische modificatie technieken.
3. Vroege tot late embryonale ontwikkeling; In ovo geslachtsdiagnose
Een alternatief is om de mannelijke haantjes niet uit te broeden, maar in het ei te doden c.q. te laten afsterven (door beëindiging van het broeden). Dit kan als het geslacht van het kuiken in ovo wordt bepaald. Ten opzichte van de huidige situatie is daarmee niet ingegrepen in het dier of de diersoort.
 - Laat in ontwikkeling: Technisch nu al realiseerbaar vanaf dag 13 (meting oestradiol). Het verschil met de huidige situatie is dat de kuikens enkele dagen voor het uitkomen worden gedood, in plaats van na de geboorte.
 - Vroeger in de ontwikkeling: Met andere technieken (PCR/DNA-chip technieken) kan dit misschien al eerder. Niet invasieve methoden (optische technieken) zouden misschien mogelijk zijn na inbrengen van een gen voor vroege

expressie van een fluorescente merkstof als green fluorescing protein op het W chromosoom. Dit laatste betekent echter genetische modificatie van het moederdier, en de aanwezigheid van een transgen in de af te voeren niet gebruikte mannelijke eieren.

- Misschien is in ovo geslachtsdiagnose met vers gelegde eieren ook mogelijk (als gerapporteerde hormoonverschillen in dag 0 eieren bevestigd kunnen worden). In dit geval bestaat het embryo uit niet meer dan een blastodisc, een klompje van circa 50,000 cellen. Het ZZ ei kan dan nog tot waarde worden gebracht in de eiproducentenindustrie.

4. Geslachtsontwikkeling; Sex reversal

Er worden ruwweg 50% ZZ en 50% ZW eieren gelegd, als in de huidige situatie, maar je zorgt er voor dat ZZ embryo's zich tot hennen ontwikkelen, die ook gewoon eieren kunnen leggen. Volledige en permanente ontwikkeling van ZZ embryo's tot functionele henen lijkt niet te kunnen met hormonale behandeling of met beïnvloeding met incubatiecondities. Misschien zou het kunnen met natuurlijke sex reversal mutanten. Het zou in principe ook kunnen door genetische modificatie technieken.

6.2 Ingedeeld naar aard van het ingrijpen

Je kunt ook de ingrepen uitsplitsen naar de mate waarin je ingrijpt in een dier of in de diersoort (wel of geen genetische modificatie) en naar de mate van ongerief of ingrijpen in het dier of embryo en het ontwikkelingsstadium van het dier of embryo.

1. Methoden zonder genetische modificatie:

- Natuurlijke asymmetrische segregatie Z en W → De hen legt alleen vrouwelijke (ZW) eieren.
- In ovo gender sorting van vers gelegde eieren; ZZ eieren zijn nog tot waarde te brengen in de eiproducentenindustrie.
- In ovo gender sorting in vroege embryo's; ZZ embryo's doden.
- Natuurlijke letale allelcombinaties in kruisingsschema's gebruiken; ZZ embryo's sterven in een vroeg stadium.
- In ovo gender sorting in late embryo's; ZZ kuikens in ei doden.
- Sex reversal; ZZ embryo's ontwikkelen zich tot hennen.

2. Methoden met genetische modificatie:

- Inbrengen vroege expressie green fluorescing protein → In ovo gender sorting in vroege embryo's, ZZ embryo's doden.
- Inbrengen 'Meiotic drive' factoren → asymmetrische segregatie Z en W in oogenese of falen ontwikkeling van Z eicellen.
- Inbrengen dosisafhankelijk letaal gen op het Z chromosoom, of letale factor op een willekeurig chromosoom met een compensatie op het W chromosoom. → Tijdens heel vroege ontwikkeling sterft ZZ embryo af.

7. Methoden zonder genetische modificatie

7.1 De hen legt alleen vrouwelijke (ZW) eieren.

In vogels zijn er heel recent een groot aantal publicaties verschenen die tonen dat de (primaire) sex ratio door het moederdier kan worden beïnvloed, onder andere in de *Eclectus papegaai* (Heinsohn et al. 1997), de *Tawny owl* (Appleby et al., 1997), de *Lesser black-backed gull* (Nager et al. 1999), de pimpelmees (Sheldon et al 1999; Korsten et al., 2006), de *Seychelles warbler* (Komdeur et al 2002), de zwarte spreeuw (Veiga et al. 2004), de huisvink (Badyaev et al. 2005), de pauw (Pike and Petrie 2005), de kwartel (Pike and Petrie, 2006), en de kip (Müller et al 2002; Correa et al, 2005). Love et al (2005) hebben door implantaten met corticosteron de bloedspiegel van corticosteron in het bloed verhoogd in spreeuwen. Dit leidde tot verhoging van de corticosteron concentraties in de eieren en hierdoor trad een significante verhoging op van het percentage geboren vrouwtjes (secundaire geslachtsverhouding). Veiga et al (2004) voorzagen vrouwelijke zwarte spreeuwen met testosteron afgevend implantaten en vonden een hoger percentage mannelijke nakomelingen. Pike and Petrie (2006) vonden dat een verhoogde concentratie van

corticosteron leidde tot een verlaagde primaire geslachtsverhouding met slechts 31% mannetjes. In de kip vonden Correa et al. (2005) een sterke verlaging van de primaire geslachtsverhouding (slechts 25% mannetjes) na injectie van de hen met progesteron.

Het is niet helemaal duidelijk met welk(e) mechanisme(n) de hen in staat is de geslachtsverhouding te beïnvloeden. Bij vogels wordt de primaire geslachtsverhouding bepaald in het moederdier. Tijdens de meiose wordt de helft van elk chromosoompaar afgescheiden in het zgn. poollichaampje en gaat verloren, terwijl de andere helft van de chromosomen in de eicel blijft. Als de verdeling van de chromosomen willekeurig is dan heeft 50% van de eicellen een Z chromosoom en 50% een W chromosoom. De meiose vindt slechts enkele uren voor de ovulatie plaats, als de dooier al geheel is aangelegd (review in Krackow, 1995; Komdeur et al 2002; Pike and Petrie 2003). Het moederdier kan dus niet uit een voorraad van follikels kiezen welke follikel (met een Z of een W eicel) voor ovulatie wordt gerecruteerd. Het is ook niet waarschijnlijk dat de hen in staat is om ervoor te zorgen dat een geovuleerde eicel wel of niet wordt bevrucht afhankelijk van het geslachtschromosoom in de eicel. Verschillende onderzoeksgroepen suggereren dan ook dat kennelijk de hen in staat is om de segregatie van Z en W chromosomen richting eicel en poollichaampje tijdens de meiose te beïnvloeden, waarschijnlijk door het hormoongehalte of andere eigenschappen van de dooier te beïnvloeden. (Petrie et al 2001; Müller et al 2002; Badyaev et al 2005; Correa et al 2005; Pike and Petrie 2006). Mechanismen voor een asymmetrische segregatie van geslachtschromosomen tijdens de meiose en de relatie daarvan met hormoongehalten werden al eerder gerapporteerd (Gard, 1992; Barton and Goldstein 1996; LeMaire-Adkins and Hunt, 2000; De Villena and Sapienza 2001).

Het doden van ééndagskuikens van een 'ongewenst' geslacht kan worden voorkomen of sterk worden verminderd als wij dit mechanisme kunnen induceren en versterken in de hennen die broedeieren voor de leghensector leggen. Deze hennen zullen dan uitsluitend, of met een verhoogd percentage, ZW (vrouwelijke) eieren leggen.

Hiervoor is het nodig dat de beschreven resultaten van Correa et al. (2005) worden gereproduceerd. Hierna kan onderzoek worden gericht op het beter begrijpen van het mechanisme om het mechanisme te kunnen induceren en te versterken zonder dat dit mag leiden tot ongerief voor de hennen of de daaruit voorkomende kuikens.

Hennen zouden ook uitsluitend vrouwelijke (ZW) eieren leggen als ze een (natuurlijke) mutatie hebben waardoor de condensatie van het Z chromosoom niet goed verloopt na de meiose, of waarin Z-chromosomale eicellen niet bevrucht kunnen worden door zaadcellen. Dergelijke mechanismen zijn bij zoogdieren beschreven (maar dan met betrekking tot de Y-chromosomale zaadcellen; Ellis et al. 2005; Ward and Burgoyne 2006; Szyda et al., 2000). Het is wellicht mogelijk natuurlijke mutanten op te sporen indien juist positief wordt gelet op hennen met een onregelmatige eileg of een laag percentage bevruchte eieren.

7.2 In ovo gender sorting in vers gelegde eieren

Recent zijn er een aantal heel interessante studies gedaan waarin werd gevonden dat 'mannelijke' (ZZ) en 'vrouwelijke' (ZW) eieren van vogels kunnen verschillen op een aantal punten. Petrie et al (2001) meldden een significant hoger gehalte van androsteendion, testosteron, 5 α dihydrotestosteron, en 17 β oestradiol in mannelijke en vrouwelijke eieren van de pauw. Müller et al (2002), meldden dat in kippeneieren er significante verschillen zijn tussen de dooiers van mannelijke en vrouwelijke eieren in het gehalte van testosteron, maar dat dit verschil afhankelijk is van de rangorde (dominant-subordinaat) van de hen. In de eendachtige *mallard* vonden Cunningham and Russell (2001) significante verschillen in de grootte van mannelijke en vrouwelijke eieren. In vogels vindt de meiose slechts enkele uren voor de ovulatie plaats. Hierbij worden de Z en W chromosomen van elkaar gescheiden. Eén van de twee komt in de dan gevormde eicel, de andere gaat verloren in het 'poollichaampje'. De verschillen in hormoongehalte en wellicht andere verschillen worden dus eerst aangelegd, en men denkt dat deze verschillen dan vervolgens de geslachtskeuze (Z of W) in de eicel bepaalt. (Petrie et al 2001; Müller et al 2002; Badyaev et al 2005; Correa et al 2005; Pike and Petrie 2006).

Deze recente ontwikkelingen suggereren dat het mogelijk kan zijn om reeds in gelegde eieren het geslacht van het ei te bepalen, bijvoorbeeld door het meten van bepaalde hormonen in een met een fijne naald uit de eidooier genomen monster. Het op grote schaal bemonsteren van de eieren kan robotmatig met bijvoorbeeld de *in ovoject* techniek van de firma Embrex.

Voor de goede orde, het gaat hier dus om maternale hormonen in de dooier van het ei. Dit is dus geheel anders dan de hormonen van embryonale herkomst die kunnen worden bepaald vanaf dag 13 voor het bepalen van het geslacht van het ontwikkelende kuiken (zie paragraaf 7.5).

Het doden van ééndagskuikens van een 'ongewenst' geslacht kan worden voorkomen als het inderdaad mogelijk blijft met voldoende zekerheid het geslacht te bepalen van vers gelegde eieren. Het verdient aanbeveling hier onderzoek naar te verrichten. De conceptie (de bevruchting van de eicel door een zaadcel) heeft al wel plaatsgevonden, maar het embryo is nog niet meer dan een ongedifferentieerd klompje van ongeveer 50,000 cellen (de zgn. blastodisc). Het niet hervatten van de ontwikkeling van het embryo (door het niet broeden van het ei) is slechts een minimale ingreep. Bovendien kunnen de niet bebroede ZZ eieren nog tot waarde worden gebracht in de eiproductenindustrie.

7.3 In ovo gender sorting tijdens vroege embryonale ontwikkeling

Het vaststellen van het geslacht van het embryo *in ovo* is mogelijk met moleculair-genetische technieken. Het primaire verschil tussen mannelijke en vrouwelijke embryo's is dat het mannelijke embryo ZZ is en het vrouwelijke ZW. Dit biedt mogelijkheden voor toepassing van PCR (polymerase chain reaction) technieken voor het vaststellen van het geslacht. Hiervoor is nodig dat er tenminste enkele cellen worden verkregen. Langs invasieve weg is bepaling van het geslacht aan de hand van W specifieke sequenties al veelvuldig toegepast voor onderzoek naar de (primaire) geslachtsverhouding in vogeleieren (Griffiths et al. 1998). Met de *in ovoject* techniek van de firma Embrex is beschreven dat kleine monsters allantois vloeistof uit 13-18 dagen bebroede eieren kunnen worden genomen. Hoewel dit niet beschreven werd, zal het mogelijk zijn om hierin mRNA's of DNA te detecteren. Het nemen van een dergelijk 'biop' uit eieren van een veel vroeger stadium (bijvoorbeeld dag 3-8) zal zeker mogelijk zijn, maar zal door de geringere afmetingen van het embryo moeilijker zijn te automatiseren. Echter, waarschijnlijk kan worden volstaan met het nemen van een monster niet uit het embryo zelf maar uit het zich langs de schaal van het ei uitstrekkende bloedvaatstelsel, waarin ook embryonale cellen aanwezig zijn.

De detectie van het geslacht op basis van W chromosomale DNA of mRNA sequenties zal op een praktisch uitvoerbare wijze met een heel hoge doorvoersnelheid uitvoerbaar moeten zijn. Het is denkbaar dat hiervoor een systeem wordt ontwikkeld analoog aan het Embrex systeem voor hormoonbepalingen in latere embryo's (zie hieronder in paragraaf 7.5). Methoden voor detectie met behulp van moleculair genetische technieken omvatten bijvoorbeeld PCR, DNA chip technologieën en andere detectieprincipes die gebaseerd zijn op complementaire hybridisatie. Wat betreft het laatste zijn er heel interessante ontwikkelingen wat betreft snelle en heel gevoelige detectie zonder labeling met behulp van de Biacore technologie.

Het doden van ééndagskuikens van een 'ongewenst' geslacht kan worden voorkomen als het geslacht van het embryo heel vroeg kan worden bepaald. Het beëindigen van de ontwikkeling van het mannelijke embryo in een vroeg ontwikkelingsstadium is een relatief geringe ingreep. Het verdient aanbeveling hier onderzoek naar te verrichten.

7.4 Natuurlijke letale allelcombinaties in kruisingschema's gebruiken

Het is denkbaar dat er natuurlijke mutanten bestaan in de kip waarin een (sterk) verlaagd aantal mannelijke dieren uitkomt door een hoog percentage vroeg embryonale sterfte van mannelijke (ZZ) embryo's. Dit zou bijvoorbeeld kunnen als het een dosisafhankelijk Z-gebonden gen is, of als het gaat om een essentieel autosomaal gen dat door translocatie op het W chromosoom is gekomen. Als dit gebaseerd is op een enkel gen en omgevingsafhankelijk is dan kun je voor het in stand houden van de genetische lijn mannetjes geboren laten worden. Als het gen niet omgevingsafhankelijk is, dan kan het alleen maar als het defect niet tot 100% sterfte leidt en blijven dus ook 'ongewenste' haankuikens geboren worden, echter in een lage frequentie.

Hetzelfde kan ook bereikt worden met een combinatie van verschillende genen, waarvan er één op het Z chromosoom ligt. Er kunnen dan genetische lijnen gemaakt worden waarin de letale combinatie van allelelen alleen kan ontstaan in de mannetjes (bijvoorbeeld Z^*Z^+ = letaal).

Het doden van ééndagshaantjes kan worden voorkomen als het ZZ embryo in een heel vroeg stadium afsterft. Afhankelijk van het tijdstip waarop dit optreedt, kan dit gezien worden als relatief onbezwaarlijk. Het is wellicht mogelijk natuurlijke mutanten op te sporen indien juist positief wordt gelet op hennen, hanen, of hen-haan combinaties met een laag percentage uitkomende eieren, met kuikens van het gewenste geslacht.

7.5 In ovo gender sorting tijdens latere embryonale ontwikkeling

De Amerikaanse bedrijven Embrex Inc. en LifeSensors Inc. zijn samen bezig geweest met de ontwikkeling van een volledig systeem voor het op grote schaal en met grote doorlooptijd detecteren van het geslacht van eieren met een leeftijd van 13-18 dagen. In dit systeem worden monsters allantoïes vloeistof genomen waarin vervolgens het gehalte van het hormoon oestradiol wordt bepaald. Recent is gewerkt aan een prototype van het systeem voor veldproeven. Echter in 2005 heeft Embrex het project 'opgeschort' (suspended). Dit hoeft niet te betekenen dat het systeem 'niet werkt' maar het kan zijn dat invoering van het systeem (nog) als onrendabel wordt gezien. Het betekent in ieder geval dat een dergelijk systeem als kant-en-klaar commercieel verkrijgbaar product momenteel nog niet bestaat en in de praktijk kan worden ingevoerd.

Het doden van ééndagskuikens van een 'ongewenst' geslacht kan worden voorkomen als het geslacht van het kuiken tussen dag 13-18 kan worden bepaald. Het doden van het mannelijke kuiken in het ei is slechts in beperkte mate een geringere ingreep dan het doden van ééndagskuikens.

7.6 Sex reversal

Het doden van ééndagshaantjes kan worden voorkomen indien genetisch mannelijke embryos kunnen worden aangezet tot ontwikkeling tot vrouwelijk dier. Voorwaarde is dat de dieren uitgroeien tot volwaardige goed eierleggende hennen. In dat opzicht is het interessant dat bij vogels gebleken is dat ZZ (mannelijke) kiemcellen in meiose kunnen gaan en dan functionele eicellen kunnen produceren (Kagami et al 1995).

Hormonale sex reversal

Injectie van oestrogenen in ZZ genetisch mannelijke eieren leiden tot feminisering, maar dit is niet permanent. Het lijkt niet mogelijk met hormonale behandeling of met andere condities volledige functionele ontwikkeling van ZZ hennen te verkrijgen

Genetische Sex reversal

Genetische sex reversal is een bekend fenomeen bij zoogdieren. Spontane genetische sex reversal is bij vogels niet beschreven (Shan et al 2000). Er zal dan ook een dubbele mutatie/recombinatie voor nodig zijn: 1) Recombinatie van het gen of de genen waarvan men nu aanneemt dat ze de 'hoofdschakelaar' zijn voor vrouwelijke ontwikkeling van het W chromosoom naar het Z chromosoom of naar een autosoom.

2) Het gen of de genen op het Z chromosoom die mede bepalend zijn voor mannelijke ontwikkeling moeten zijn uitgeschakeld. Indien een dergelijke mutant zou bestaan dan zouden mannelijke dieren kunnen worden verkregen door injectie van aromataseremmers in het ei (hormonale sex reversal naar functionele mannen is wel mogelijk).

Het lijkt niet aanbevelenswaardig naar een dergelijke combinatie van natuurlijke mutaties in de natuurlijke populatie te gaan zoeken. De kans ze te vinden is uitzonderlijk klein. Vervolgens is de vraag of een dergelijke afwijking succesvol in een fokprogramma kan worden ingebouwd.

8. Methoden met genetische modificatie

Los van de discussie of dit gewenst zou zijn valt te benoemen dat het theoretisch (en technisch) mogelijk is om genetische modificatie te gebruiken om alternatieven te creëren voor het doden van ééndagskuikens.

8.1 Inbrengen vroege expressie green fluorescing protein → In ovo gender sorting in vroege embryo's

Het is theoretisch (en technisch) mogelijk genetische modificatie te gebruiken om een gemakkelijk detecteerbaar verschil te creëren tussen mannelijke en vrouwelijke embryo's. Men kan bijvoorbeeld denken aan het inbouwen van een gen voor green fluorescing protein (GFP) dat uitsluitend tot expressie komt in het vrouwelijke (W chromosoom) embryo. Bij voldoende expressie kunnen dan met behulp van niet-invasieve optische technieken de vrouwtjes van de mannetjes worden onderscheiden. Het inbrengen van het GFP gen is in talloze dieren experimenteel toegepast. In dit geval is nodig dat het gen gekoppeld wordt aan een promotor die ervoor zorgt dat het gen heel vroeg in de embryonale ontwikkeling tot expressie komt. Bovendien dient expressie sterk en in alle cellen van het vroege embryo plaats te vinden. De mannelijke ZZ eieren zijn gelegd door een transgene hen, maar bevatten zelf niet het transgen en zouden dus in principe kunnen worden gebruikt in de eiproduktenindustrie.

8.2 Inbrengen 'Meiotic drive' factoren → asymmetrische segregatie Z en W in oogenese of falen ontwikkeling van Z eicellen.

In paragraaf 7.1 werden 2 mogelijke mutanten beschreven waarin eicellen met een Z chromosoom te gronde gaan, of niet bevrucht kunnen worden. Dergelijke mutanten zijn bij de muis (voor het XX – XY systeem) beschreven. Zolang we niet precies weten welke genen we moeten veranderen, zal het moeilijk zijn om genetische modificatie technieken hiervoor in te zetten.

8.3 Inbrengen dosisafhankelijk letaal gen op het Z chromosoom, of letale factor op een willekeurig chromosoom met een compensatie op het W chromosoom.

In paragraaf 7.4 werden een aantal mogelijke mutanten genoemd waarin de ontwikkeling van het mannelijke (ZZ) embryo in een vroeg stadium stopt. Het is technisch goed te realiseren om hiervoor genetische modificatie technieken in te zetten. Men kan denken aan een defect essentieel gen op het Z chromosoom met een intacte copie op het W chromosoom. Er kan ook een intact gen op een autosoom (niet geslachtschromosoom) worden aangebracht. In dat geval is het samenkomen van een letale combinatie mogelijk in een eindkruising. Ook kunnen twee genen beide op het Z chromosoom worden aangebracht, waarbij expressie van beide genen letaal is. Ook dan kan een letale combinatie in een eindkruising worden verkregen.

9. Haalbaarheid en wenselijkheid van de mogelijkheden, en aanbevelingen voor vervolg

In dit hoofdstuk willen we van een aantal methoden een inschatting geven van de technische haalbaarheid en de wenselijkheid of bezwaarlijkheid. De bezwaarlijkheid van een ingreep hangt mede af van het ontwikkelingsstadium van het dier of embryo, en de mate waarin in het dier wordt ingegrepen. Op basis van de inschatting van de wenselijkheid en haalbaarheid worden in dit hoofdstuk de methoden met genetische modificatie en een aantal methoden zonder genetische modificatie niet behandeld, maar een uitgebreide beschrijving van die methoden wordt wel gegeven in de hoofdstukken 7 en 8.

9.1 Wenselijkheid (voordelen) van een aantal mogelijkheden

1. De hen legt alleen vrouwelijke (ZW) eieren.

- Geen doding ééndagskuikens.
- Geen doding of laten afsterven van embryo's
- Geen potentiële welzijns- of gezondheidsaantasting van de embryo's of uitgekomen dieren door de biopsie van embryo's.
- Belangrijke efficiency winst: de helft minder vader- en moederdieren en de helft minder broedmachines nodig.

2. In ovo gender sorting van vers gelegde eieren

- Geen doding ééndagskuikens
- Geen doding of laten afsterven van zich ontwikkelende embryo's.
- Alleen de vrouwelijke (ZW) eieren worden bebroed, dus de helft van de broedkasten nodig.
- De ZZ eieren zijn nog tot waarde te brengen in de eiproducentenindustrie.

3. In ovo gender sorting in vroege embryo's; mannelijke (ZZ) embryo's doden

- Geen doding ééndagskuikens
- Geen doding late embryo's of ongeboren kuikens.
- Slechts de helft van de uitkomstkasten nodig.

4. In ovo gender sorting in late embryo's/kuikens; mannelijke (ZZ) kuikens doden

- Geen doding uitgekomen kuikens
- Slechts de helft van de uitkomstkasten nodig.

5. Natuurlijke letale allelcombinaties; ZZ embryo's sterven in een vroeg stadium

- Geen doding ééndagskuikens
- Geen doding late embryo's of ongeboren kuikens.
- Slechts de helft van de uitkomstkasten nodig.

9.2 Aanbevelingen

Recente studies bij veel verschillende vogelsoorten (ook de kip) hebben aangetoond dat een belangrijke verschuiving van de geslachtsverhouding in de gelegde eieren mogelijk is.

Wij bevelen aan dat fundamenteel onderzoek wordt uitgevoerd naar de mechanismen die in de kip bestaan om de geslachtsverhouding in de gelegde eieren te beïnvloeden. Daarnaast bevelen we onderzoek aan gericht op de bestudering van

verschillen in o.a. hormoonverschillen tussen mannelijke en vrouwelijke eieren. Volgens de huidige inzichten worden dergelijke verschillen in de eieren juist door het moederdier aangelegd om de geslachtsbeïnvloeding te sturen. Dat betekent dat de twee fenomenen (geslachtsbeïnvloeding en verschillen tussen mannelijke en vrouwelijke eieren) in feite op dezelfde biologische mechanismen rusten.

Het voorgestelde fundamentele onderzoek kan leiden tot mogelijkheden om met een verantwoorde behandeling of houderijcondities bij de hen te induceren dat de hen uitsluitend of voor een groot deel vrouwelijke eieren legt. Tevens, of in plaats daarvan, kan dit onderzoek leiden tot de mogelijkheid om het geslacht van vers gelegde eieren te bepalen, zodat de vrouwelijke (ZW) eieren kunnen worden bebroed en de mannelijke eieren (ZZ) tot waarde kunnen worden gebracht in de eiproducentenindustrie. Beide methoden lijken een goed alternatief te bieden voor de ééndagskuikenproblematiek, en bieden tevens een belangrijke economisch voordeel.

Wij achten dat dit perspectiefvolle (maar 'risicodragende') onderzoek meerdere jaren zal vergen.

Op kortere termijn is er tenminste een deeloplossing mogelijk: de *In ovo gender sorting* methode van late embryo's/kuikens, zoals ontwikkeld door de Amerikaanse bedrijven Embrex en LifeSensor. Voor deze methode is nog wel aanvullend onderzoek en ontwikkeling nodig, aangezien Embrex dit project zelf heeft opgeschort. Deze methode biedt slechts een gedeeltelijke oplossing van het probleem: in plaats van uitgekomen kuikens van 21 dagen oud worden niet uitgekomen kuikens van 18 dagen oud gedood. Deze methode kan worden verbeterd door onderzoek te verrichten naar PCR/DNA-chip technieken, waarmee waarschijnlijk al veel eerder in het broedproces (embryo's van 3-8 dagen) het geslacht van het embryo kan worden vastgesteld, terwijl dit met de door Embrex voorgestelde hormoonbepalingen pas op dag 13-18 mogelijk is.

Daarnaast lijkt het zinvol om samen met de fokkerijorganisaties te praten over strategieën om te zoeken naar allelcombinaties die letaal zijn in een mannelijk embryo.

Er zijn bij de kip of andere vogels momenteel geen dergelijke allelcombinaties beschreven. Het is niet uitgesloten dat dergelijke mutanten in de natuurlijke populatie voorkomen, maar de kans om dergelijke mutanten op te sporen lijkt vooralsnog laag te zijn.

Appendix

Uitgebreidere behandeling van de verschillende alternatieven; Achtergronden

1. Afwijkingen van neutrale geslachtsverhouding
2. Afwijkingen van neutrale geslachtsverhouding; In vogels
3. In ovo geslachtsdiagnose
4. Sex reversal

1. Afwijkingen van neutrale geslachtsverhouding in het algemeen

De primaire geslachtsverhouding is de verhouding van mannelijke op totaal aantal embryo's, of in het geval van gameten is het de fractie Y (of 1-W voor vogels) chromosomale gameten van een gegeven totaal aantal gameten. De fractie mannelijke geboren jongen van een gegeven totaal aantal geboortes is de secundaire geslachtsverhouding (in demografische studies van de mens wordt vaak een andere definitie gehanteerd, het aantal mannen per 100 vrouwen). De 'neutrale' geslachtsverhouding is voor de meeste dieren 0.5, of 50%.

Afwijkende secundaire geslachtsverhoudingen zijn voor tal van diersoorten beschreven (Rosenfeld and Roberts, 2004). Velerlei factoren kunnen leiden tot dergelijke afwijkingen, zoals stress, sociale rang, lichaamsconditie, immunologische factoren, voederniveau, leeftijd, pariteit, parasitaire infecties, en bacteriële infecties (mannelijk embryo dodende bacteriën in insecten). Deels komen de afwijkende geslachtsverhouding voor rekening van een grotere prenatale sterfte van één van de twee geslachten. Extreem hierbij is de vrijwel 100% sterfte van mannelijke embryo's in bepaalde insectensoorten met verticale transmissie van *Wolbachia* of *Spiroplasma* bacteriën (Dyson and Hurst, 2004; Montenegro et al. 2006)

Vergaand afwijkende secundaire en ook primaire geslachtsverhoudingen kunnen in *Drosophila* en sommige andere diptera-soorten worden veroorzaakt door op het X chromosoom gelegen *meiotic drive* genen (Presgraves et al 1997; Cazemajor et al 2000; Cha et al 2006). In deze soorten produceren X^dY mannetjes normale X^d zaadcellen en gedegenererde Y zaadcellen. Als gevolg worden er vrijwel uitsluitend vrouwtjes geboren. Het genproduct van X^d leidt direct of indirect tot veranderingen van het Y chromosoom die leiden tot fouten van bijvoorbeeld de condensatie van het Y chromosoom na de meiose. X^d vergroot zo zijn kans op transmissie naar de volgende generatie, en verspreid zich zelf daardoor sterk door de populatie, terwijl het toch negatief is voor het overall genoom, en voor de populatie als geheel. Daarnaast bestaan er Y-linked en autosomale suppressors of modifiers van meiotic drive genen, waarbij het Y^m genotype immuun is voor de werking van X^d .

Ook in de muis zijn er natuurlijk voorkomende afwijkende genotypes beschreven (Ellis et al. 2005) met een sterk verminderd aantal functionele Y chromosomale ('mannelijke') zaadcellen, of Y chromosomale zaadcellen met verminderd bevruchtend vermogen (Ward and Burgoyne 2006), en dus een afwijkende primaire geslachtsverhouding (meer vrouwtjes). Deze dieren hebben een deletie in een bepaald gebied van het Y chromosoom. In deze dieren blijven bepaalde genen op het X en Y chromosoom actief in spermatiden (zaadcellen in wording na de meiose), terwijl die normaal zijn onderdrukt in deze cellen. De auteurs denken dat de 'normale' onderdrukking van deze X- and Y-chromosomale genen een evolutionair ontwikkeld mechanisme is om te voorkomen dat een intragenomisch conflict tussen X- and Y-chromosomale genen (selfish gene) zou resulteren in door het X of door het Y chromosoom gestuurde afwijkende geslachtsverhouding (als bij de 'meiotic drive' genen, zie hierboven).

In stieren zijn ook bepaalde genotypes beschreven met een afwijking van de primaire geslachtsverhouding die samenhangt met de mate waarin recombinatie optreedt in het X chromosoom. Aangenomen wordt dat recombinatie kan leiden tot een combinatie van allelen die een negatieve werking heeft op de levensvatbaarheid van Y chromosomale ('mannelijke') zaadcellen (Szyda et al., 2000).

2. Afwijkingen van neutrale geslachtsverhouding; In vogels

Volgens de hypothese van Trivers en Willard (1973) geeft het voordeel voor dieren om de relatieve investering in mannelijk en vrouwelijk nageslacht aan te passen wanneer een fysiologische of oecologische variabele de relatieve *fitness* van zonen en dochters beïnvloedt. In andere woorden: Het kan onder omstandigheden beter zijn (voor het doorgeven van je genen) om meer zonen of juist meer dochters te krijgen. Het kan hierbij onder andere gaan om factoren als de conditie of de sociale rangorde van de moeder, de beschikbaarheid van voedsel, de seksuele aantrekkelijkheid van het mannetje, etc.

In vogels zijn er recent een groot aantal publicaties verschenen die inderdaad tonen dat de (primaire) sex ratio door het moederdier kan worden beïnvloed, onder andere in de Eclectus papegaai (Heinsohn et al. 1997), de *Tawny owl* (Appleby et al., 1997), de *Lesser black-backed gull* (Nager et al. 1999), de pimpelmees (Sheldon et al 1999; Korsten et al. , 2006), de *Seychelles warbler* (Komdeur et al 2002), de zwarte spreeuw (Veiga et al. 2004), de huisvink (Badyaev et al. 2005), de pauw (Pike and Petrie 2005), de kwartel (Pike and Petrie, 2006), en de kip (Müller et al 2002; Correa et al, 2005). Interessant hierbij is dat deze studies niet enkel gebaseerd zijn op correlaties, maar op experimenteel geïnduceerde afwijkingen van de geslachtsverhouding. Een aantal publicaties heeft daarbij het belang laten zien van de hormoonhuishouding van het moederdier. Love et al (2005) hebben door implantaten met corticosteron de bloedspiegel van corticosteron in het bloed verhoogd in spreeuwen. Dit leidde tot verhoging van de corticosteron concentraties in de eieren en hierdoor trad een significante verhoging op van het percentage geboren vrouwtjes (secundaire geslachtsverhouding), terwijl dit niet optrad in *sham* geopereerde controle dieren. In andere studies wezen de resultaten tevens op een verandering van de primaire geslachtsverhouding. Veiga et al (2004) voorzagen vrouwelijke zwarte spreeuwen met testosteron afgevend implantaten en vonden een hoger percentage mannelijke nakomelingen (en geen selectieve sterfte tussen leg en uitkomen). Omdat het effect langer aanhield dan de hormoonbehandeling werd ervan uitgegaan dat het effect indirect werkt, mogelijk via de sociale status van het moederdier. Pike and Petrie (2006) bestudeerden op vergelijkbare wijze de invloed van verhoogde of verlaagde hormoonspiegels van corticosteron, oestradiol, en testosteron in kwartels. Een verhoogde concentratie van corticosteron leidde tot een verlaagde (meer vrouwtjes) primaire geslachtsverhouding, met slechts 31% mannetjes. Ook in de kip werd gewezen op een mechanisme van beïnvloeding waarin (naast androgenen) sociale rangorde (waarschijnlijk via corticosteron) een belangrijke rol speelt (Müller et al. 2002). Corticosteron en progesteronconcentraties kunnen elkaar sterk beïnvloeden en in de kip vonden Correa et al. (2005) een sterke verlaging van de primaire geslachtsverhouding (slechts 25% mannetjes) na injectie van de hen met progesteron.

Het is niet helemaal duidelijk met welk mechanisme of met welke mechanismen de hen in staat is de geslachtsverhouding te beïnvloeden. Bij vogels wordt de primaire geslachtsverhouding bepaald in het moederdier. Het is niet waarschijnlijk dat het moederdier uit een voorraad van follikels kan kiezen welke follikel (met een Z of een W eicel) voor ovulatie wordt gerecruiteerd. Ten eerste zou het moederdier dan moeten kunnen 'weten' of een eicel een Z of een W chromosoom bevat. Bovendien vindt in vogels de scheiding tussen Z en W chromosomen in de eerste meiotische deling plaats enkele uren voorafgaand aan de ovulatie, als de dooier al geheel is aangelegd (review in Krackow, 1995; Komdeur et al 2002; Pike and Petrie 2003). Het is ook niet waarschijnlijk dat de hen in staat is om ervoor te zorgen dat een geovuleerde eicel wel of niet wordt bevrucht afhankelijk van het geslachtschromosoom in de eicel. Ook dan zou immers de hen (of de zaadcellen) moeten kunnen 'weten' of een eicel een Z of een W chromosoom bevat. Bovendien zouden er dan regelmatig niet bevruchte eicellen gevonden worden.

Er zijn verschillende studies die aangeven dat de eidooiers van Z en W eieren verschillen in gehalte van bepaalde hormonen (in de kip: Müller et al. 2002; Correa et al. 2005; In de pauw: Petrie et al 2001) of snelheid van dooievorming (Badyaev et al. 2005), of verschillen in grootte (Cunningham and Russell 2001). Omdat de eidooier al geheel is aangelegd wanneer de meiose plaats vindt en de Z en W chromosomen uit elkaar gaan is het niet mogelijk dat de gevonden verschillen het gevolg zijn van het hebben van een Z of een W chromosoom. In een aantal publicaties suggereren verschillende groepen het omgekeerde, namelijk dat de hen in staat is om de segregatie van Z en W chromosomen richting eicel en poollichaampje tijdens de meiose te beïnvloeden door de hormonale samenstelling van de eicellen te beïnvloeden, of door andere factoren te beïnvloeden die de dooiersamenstelling én de segregatie van de geslachtschromosomen beïnvloeden (Petrie et al 2001; Müller et al 2002; Badyaev et al 2005; Correa et al 2005; Pike and Petrie 2006). Mechanismen voor een asymmetrische segregatie van geslachtschromosomen tijdens de meiose en de relatie daarvan met hormoongehalten werden al eerder gerapporteerd (Gard, 1992; Barton and Goldstein 1996; LeMaire-Adkins and Hunt, 2000; De Villena and Sapienza 2001).

3. In ovo geslachtsdiagnose

Het doden van ééndagskuikens van een 'ongewenst' geslacht kan worden voorkomen wanneer reeds in het ei, vóór het uitkomen het geslacht van het kuiken of het (vroeg) embryo kan worden vastgesteld. Het broeden van het niet gewenste ei kan dan worden gestaakt waardoor het embryo of het ongeboren kuiken in het ei afsterft.

Ieder verschil tussen de mannelijke en vrouwelijke embryo's of kuikens dat voldoende onderscheid biedt om met zekerheid het geslacht vast te stellen, en dat tevens vast te stellen is zonder de levensvatbaarheid van het embryo in gevaar te brengen is in principe bruikbaar. Om dit in de praktijk kostenefficiënt te kunnen gebruiken moet de sex-specifieke merker kunnen worden gedetecteerd met een 98.5 betrouwbaarheid en met een doorloopsnelheid van 20,000–30,000 eieren per uur (P. Phelps, e-Digest volume 2, nummer 1). Potentiële sex-specifieke kenmerken die Phelps noemde zijn: 1) Verschillen in fysiologische parameters, bijvoorbeeld hartslag (Laughlin et al. 1976) Glahn et al 1987); 2) PCR identificatie van het W chromosoom (Clinton, 1994; Uryu et al., 1989; Petite, 1992) 3) Anatomische verschillen, zoals die van de gonaden; 4) Verschillen in sex specifieke stoffen (bijvoorbeeld hormonen) aanwezig in het bloed of in extra-embryonale vloeistof (Gill et al., 1983; Tanabe et al., 1979).

Moleculair-genetische verschillen

Het primaire verschil tussen mannelijke en vrouwelijke embryo's/ kuikens is dat het mannelijke kuiken ZZ is en het vrouwelijke ZW. Dit biedt mogelijkheden voor toepassing van PCR (polymerase chain reaction) technieken voor het vaststellen van het geslacht. Hiervoor is nodig dat er tenminste enkele cellen worden verkregen. Langs invasieve weg is bepaling van het geslacht aan de hand van W specifieke sequenties al veelvuldig toegepast voor onderzoek naar de (primaire) geslachtsverhouding in vogeleieren (Griffiths et al. 1998). Met de in ovo techniek van de firma Embrex is beschreven dat op een niet-invasieve manier kleine monsters allantois vloeistof uit dag 13-18 eieren kunnen worden genomen. Hoewel dit niet beschreven werd zal het mogelijk zijn om hierin mRNA's op DNA te detecteren. Het nemen van een dergelijk 'biopt' uit eieren van een veel vroeger stadium (bijvoorbeeld dag 3-8) zal zeker mogelijk zijn, maar zal door de geringere afmetingen van het embryo moeilijker zijn te automatiseren. Echter wellicht kan worden volstaan met het nemen van een monster niet uit het embryo zelf maar uit het zich langs de schaal van het ei uitstrekkende bloedvatstelsel, waarin ook embryonale cellen aanwezig zijn.

Het ideaal zal zijn om in pas gelegde eieren reeds het geslacht te kunnen vaststellen. In vers gelegde eieren bestaat het embryo uit niet meer dan een zeer kleine (1mm) blastodisc. Deze bevat al wel ongeveer 50,000 cellen die zijn ontstaan uit celdelingen van de zygote tijdens het transport van het ei (de eicel) in het lichaam van de hen, in de circa 24 uur tussen bevruchting en het leggen van het ei. Het zal duidelijk zijn dat het bijzonder moeilijk zal zijn om een automatisch uitvoerbare en met hoge doorvoersnelheid toepasbare techniek te ontwikkelen om de ligging van de blastodisc in het (gesloten) ei te bepalen (dit kan dmv MRI, zie Klein et al 2002) en vervolgens om door middel van een fijne naald hieruit een biopt te nemen zonder de ontwikkelingskansen van het prille embryo te verminderen.

De detectie van het geslacht op basis van W chromosomale DNA of mRNA sequenties zal ook op een praktisch uitvoerbare wijze met een heel hoge doorvoersnelheid uitvoerbaar moeten zijn. Het is denkbaar dat hiervoor een systeem wordt ontwikkeld dat de benodigde doorvoersnelheid haalt, maar een dergelijk compleet robotmatig systeem (vergelijk het hieronder beschreven Embrex systeem voor hormoonbepalingen) is momenteel nog niet ontwikkeld. Methoden voor detectie met behulp van moleculair genetische technieken omvatten bijvoorbeeld PCR, DNA chip technologieën, andere detectieprincipes die gebaseerd zijn op complementaire hybridisatie. Wat betreft het laatste zijn er heel interessante ontwikkelingen wat betreft snelle en heel gevoelige detectie zonder labelingstap met behulp van de Biacore technologie.

Verschillen in embryonale hormonen

Mannelijke en vrouwelijke embryo's verschillen ook in gehalte van een aantal hormonen die een rol spelen bij de gelachtsontwikkeling. Tijdens de embryonale ontwikkeling stuurt de 'genetische sex' van het embryo de ontwikkeling in de richting van een vrouwelijk of een mannelijk kuiken (Smith and Sinclair 2004; Bruggeman et al, 2002). Na circa 3,5 dag incubatie worden de eerste verschillen gevonden in expressie van bepaalde genen. Op dag 5 is er een verschil in gehalte van het Anti Müllerse gang Hormoon (AMH). Rond dag 6 komt de herkenbare morfologische differentiatie van de gonaden op gang. Rond die tijd begint ook de synthese van oestrogenen in de (linker) vrouwelijke gonade, die zorgen voor de ontwikkeling van die gonade tot ovarium. Op dag 7.5 zijn er verschillen in oestradiol (in ♀) en testosteron (in ♂). Op dag 11.5 zien we een verschil in gehalte van het inhibine (♂ >> ♀).

Embrex in ovo gender sorting

Het Amerikaanse bedrijf Embrex Inc. en LifeSensors Inc. zijn bezig geweest met de ontwikkeling van een volledig systeem voor het op grote schaal en met grote doorlooptijd detecteren van het geslacht van eieren met een leeftijd van 13-18 dagen. In dit systeem worden monsters allantois vloeistof genomen waarin vervolgens het gehalte van het hormoon oestradiol wordt bepaald. Recent is gewerkt aan een prototype van het systeem voor veldproeven. Echter in 2005 heeft Embrex het project 'opgeschort' (suspended). Dit hoeft niet te betekenen dat het systeem 'niet werkt' maar het kan zijn dat invoering van het systeem (nog) als onrendabel wordt gezien. Het betekent in ieder geval dat een dergelijk systeem als kant-en-klaar commercieel verkrijgbaar product momenteel nog niet bestaat en in de praktijk kan worden ingevoerd.

Verschillen in maternale hormonen in de eidooier van vers gelegde eieren

Recent zijn er een aantal heel interessante studies gedaan waarin werd gevonden dat 'mannelijke' (ZZ) en 'vrouwelijke' (ZW) eieren van vogels kunnen verschillen op een aantal punten. Petrie et al (2001) meldden een significant hoger gehalte van androsteendion, testosteron, 5 α dihydrotestosteron, en 17 β oestradiol in mannelijke en vrouwelijke eieren van de pauw. Müller et al 2002, meldden dat in kippeneieren er significante verschillen zijn tussen mannelijke en vrouwelijke eieren in het gehalte van testosteron, maar dat dit verschil afhankelijk is van de rangorde (dominant-subordinaat) van de hen. In de eenachtige *mallards* vonden Cunningham and Russell (2001) significante verschillen in de grootte van de eieren. In vogels vindt de meiose slechts enkele uren voor de ovulatie plaats. Hierbij worden de Z en W chromosomen van elkaar gescheiden. Eén van de twee komt in de dan gevormde eicel, de andere gaat verloren in het 'poolichaampje'. De verschillen in hormoongehalten en wellicht andere verschillen worden dus eerst aangelegd, en men denkt dat deze verschillen dan vervolgens tijdens de meiose de geslachtskeuze (Z of W) in de eicel bepaalt. (Petrie et al 2001; Müller et al 2002; Badyaev et al 2005; Correa et al 2005; Pike and Petrie 2006).

Deze recente ontwikkelingen suggereren dat het mogelijk kan zijn om reeds in gelegde eieren het geslacht van het ei te bepalen, bijvoorbeeld door het meten van bepaalde hormonen in een met een fijne naald uit de eidooier genomen monster. Het verdient aanbeveling hier onderzoek naar te verrichten.

Sex specific antigen

Cellen van het vrouwelijke embryo dragen aan het celoppervlak een sex specifiek antigeen dat d.m.v. immunologische technieken aan te tonen is (Ebensperger et al 1988).

Transgenese

Los van de discussie of dit gewenst zou zijn valt te benoemen dat het theoretisch (en technisch) mogelijk is om transgenese te gebruiken om een gemakkelijk detecteerbaar verschil te creëren tussen mannelijke en vrouwelijke embryo's. Men kan bijvoorbeeld denken aan het inbouwen van een gen voor green fluorescing protein (GFP) dat uitsluitend tot expressie komt in het vrouwelijke (W chromosoom) embryo. Het zou dan mogelijk kunnen zijn dat met behulp van niet invasieve optische technieken de fluorescentie meetbaar is.

4. Sex reversal

Het doden van één-dagshaantjes kan worden voorkomen indien genetisch mannelijke embryos kunnen worden aangezet tot ontwikkeling tot vrouwelijk dier. Voorwaarde is dat de dieren uitgroeien tot volwaardige goed eileggende hennen. In dat opzicht is het interessant dat bij vogels gebleken is dat ZZ kiemcellen in meiose kunnen gaan en dan functionele eicellen kunnen produceren (Kagami et al. 1995).

Hormonale sex reversal

De controle over de ontwikkeling van de gonaden tot testis of ovarium, en hiermee de geslachtsontwikkeling van het dier, is in vogels minder stabiel dan in zoogdieren, en is gevoeliger voor hormonale manipulatie. In kippen is *sex reversal* mogelijk door oestrogenen of juist remmers van oestrogeen synthese te injecteren in de eieren (Scheib 1983; Elbrecht en Smith, 1992). Door het inbrengen van een remmer van het enzym aromatase, dat verantwoordelijk is voor oestrogeen synthese, kan een permanente geslachtsverandering van vrouwelijk naar mannelijk worden geïnduceerd. Omgekeerd kan injectie van oestrogenen in ZZ genetisch mannelijke eieren leiden tot feminisering, maar dit is niet permanent.

Genetische Sex reversal

Genetische sex reversal is een bekend fenomeen. Zo zijn er bij de mens XX mannen, waarbij door recombinatie tijdens de meiose de *sex determining region Y* (SRY) op het X chromosoom is komen te liggen. Ook zijn er gevallen bekend van XX mannen met normale X chromosomen (zonder SRY) (Dada et al 2002). In deze mannen is mogelijk het autosomale locus 'Z' onwerkzaam geworden. Dit locus schakelt normaal de genen betrokken bij ontwikkeling tot man uit (en staat zelf weer onder (negatieve) controle van SRY). Bij zoogdieren (de mens) leidt een dergelijke sex reversal niet tot vruchtbare mannen. In vogels zou een vergelijkbare genetische sex reversal van de homogamete sex (ZZ) leiden tot sex reversal van genetisch mannelijke ZZ embryo's naar fenotypisch vrouwelijke hennen. In het geval van vogels is het niet onwaarschijnlijk dat de gevormde hennen wél fertiel zijn en gewoon eieren leggen. Het falen van meiose en spermatogenese in XX (zoogdier) cellen kan samen hangen met het gen dosage effect (2 X chromosomen in plaats van 1 X chromosoom. Genetisch mannelijke XX kiemcellen bleken significant minder gemethyleerd te zijn (gen *imprinting*), dan de XY controle mannelijke kiemcellen (Durcova-Hills, 2006). Al eerder was bekend dat, anders dan in somatische cellen, in kiemcellen in de zich ontwikkelende gonaden beide X chromosomen actief (niet gemethyleerd) zijn, zelfs als de XX kiemcellen zich in een (XY) testis bevinden. Gen dosis regulatie door *imprinting* is bij vogels anders geregeld dan bij zoogdieren. Het is gebleken dat als genetisch mannelijke (ZZ) blastoderm cellen worden ingespoten in een zich ontwikkelend vrouwelijk (ZW) embryo, dat sommige cellen dan de primordiale eierstok koloniseren als kiemcellen. Deze ZZ kiemcellen kunnen dan in meiose gaan en produceren functionele eicellen (Kagami et al. 1995).

Spontane genetische sex reversal is bij vogels niet beschreven (Shan et al 2000), maar het overzetten of het uitschakelen (knock out) van de beschreven genen die een rol spelen bij geslachtsontwikkeling bij vogels is uiteraard goed mogelijk (Shan et al 2000; Smith and Sinclair 2004). Het gen of de genen waarvan men nu aanneemt dat ze de 'hoofdschakelaar' zijn voor vrouwelijke ontwikkeling zouden dan moeten worden overgezet van het W chromosoom naar het Z chromosoom of naar een autosoom. Het is misschien nodig om ook het gen of de genen op het Z chromosoom die mede bepalend zijn voor mannelijke ontwikkeling uit te schakelen (knock-out). De bedoeling is dat de genetische veranderingen stabiel blijven in opeenvolgende generaties, zodat een dergelijk genetische aangepaste kippenlijn slechts éénmaal gecreëerd hoeft te worden. In plaats van een constitutieve verandering van de 'hoofdschakelaar' genen zou kunnen worden gekozen voor een schakelbare genexpressie (via een omgevingsafhankelijke promotor). Immers, voor de productie van vaderdieren is toch ook de 'normale' mannelijke ontwikkeling vereist. Ook zouden mannelijke dieren kunnen worden verkregen door injectie van aromataseremmers in het ei (zie hierboven onder hormonale sex reversal).

Geraadpleegde literatuur ethisch kader

- Armstrong, S.J. & R.G. Botzler, *The Animal ethics Reader* Routledge, 2003
- Balzer, P., K.-P. Rippe & P. Schaber 'Two Concepts of Dignity for Humans and Non-Human Organisms in the Context of Genetic Engineering' *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* 13 (1): 7-27, 2000
- Boer, I.J.M. de, F.W.A. Brom, J.M.G. Vorstenbosch, 'An ethical evaluation of animal biotechnology: the case of using clones in dairy cattle breeding', *Animal Science*, 61/3: 453-464, 1995
- Bovenkerk, B., F.W.A. Brom, B.J. van den Bergh, 'Brave New Birds, The use of "Animal Integrity" in Animal Ethics, Hastings Center Report 32(2002)1:16-22
- Brom, F.W.A., 'De moraal van de dierenbeschermingswetgeving', *Nederlands Tijdschrift voor Rechtsfilosofie en Rechtstheorie* 27(1998)1: 72-84.
- Brom, F.W.A., *Onherstelbaar verbeterd. Biotechnologie bij dieren als een moreel probleem*. Assen: Van Gorcum (proefschrift Universiteit Utrecht). 302p. 1998
- Carruthers, P., *The Animals Issue: Moral Theory in Practice*, Cambridge: Cambridge University Press, 1992
- Christiansen, S. B. & Sandøe, P. (2000). Bioethics: limits to the interference with life. *Animal Reproduction Science*, 60-61: 15-29
- Clark, S.R. L., *Animals and Their Moral Standing*, New York/London: Routledge, 1997
- Dombrowski, D., 'Is the argument from marginal Cases Obtuse?' *Journal of Applied Philosophy* 23(2006)2: 223-232
- DeGrazia, D., *Taking Animals Seriously, Mental life and moral status*, New York: Cambridge University Press, 1996
- Dol M. et al. (eds), *Animal consciousness and animal ethics. Perspectives from the Netherlands*. Assen: Van Gorcum. 1998
- Dol, M., et al. (eds). *Recognizing the intrinsic value of animals: beyond animal welfare*. Assen: Van Gorcum. 2000
- Franklin, J.H., *Animal Rights and Moral Philosophy*, Columbia University Press 2005
- Garner, R., *Animal Ethics*, Cambridge Polity 2005
- Gruber, F.P., K. Brune (eds.), *Use of animals in Research: A science – Society Controversy? Soziale, ethische und Praktische Probleme bei der Beurteilung und Durchführung von Versuchen mit Mens und Tier*, Altex Buch 2002 (The Doerenkamp-Zbinden-Foundation)
- Gruen, L. 'The Moral Status of Animals', *Stanford Encyclopaedia of Philosophy* (www.plato.stanford.edu)
- Heeger, F.R. & F.W.A. Brom, 'Intrinsic Value and Direct Duties: From Animal Ethics towards Environmental Ethics', *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* 13(2001): 241-252
- Holland A. and A. (eds.), *Animal Biotechnology and Ethics*, London: Chapman & Hall, 1998
- Larrère C. & R. Larrère, 'Animal rearing as a contract?', *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* 2000: 51-58
- Midgley, M., *Animals and Why They Matter, a journey around the species barrier*, Athens GA: University of Georgia Press, 1983
- Nuffield Council on Bioethics, *The ethics of research involving animals*, (www.nuffieldbioethics.org)
- O'Neil, R. 'Animal Liberation versus Environmentalism: The Care Solution', *Environmental Ethics* 22(2000)2: 183-190
- Pierce, Ch. & D. VanDe Veer (eds.), *People, Penguins and Plastic Trees: basic issues in environmental ethics*, Belmont: Wadsworth Publishing Company 1995
- Rollin, B. E. (1989). *The unheeded cry: animal consciousness, animal pain and science*. Oxford, Oxford University Press
- Rollin, B. E. (1995). *The frankenstein syndrome: ethical and social issues in the genetic engineering of animals*. Cambridge, NY, USA, Press syndicate
- Rollin, B. E., 'Animal agriculture and emerging social ethics for animals', *Journal of Animal Science* 2004, 82: 955-964
- Sandøe, P., Nielsen, B. L., Christensen, L. G. & Sorensen, P. (1999). Staying good while playing god - the ethics of breeding farm animals. *Animal Welfare*, 8: 313-328
- Singer, P., *Practical Ethics*, 2nd Ed., Cambridge UP 1995
- Sørensen, J. T., Sandøe, P. & Halberg, N. (2001). Animal welfare as one among several values to be considered at farm level: the idea of an ethical account for livestock farming. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 30: 11-16
- Stafleu, F.R., et al., "The ethical acceptability of animal experiments: a proposal for a system to support decision-making", *Laboratory Animals* 33 (1999), pp. 295-303
- Sunstein C.R. & M.C. Nussbaum, *Animal Rights, Current Debates and New Directions*, Oxford UP 2004
- Verhoog, H. (1992). The concept of intrinsic value and transgenic animals. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 5: 147-160
- Vorstenbosch, J. M. G. (1993). The concept of integrity. Its significance for the ethical discussion on biotechnology and animals. *Livestock Production Science*, 36: 109-112
- Vries, R. De (2006). Genetic engineering and the integrity of animals. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 19: 469-493
- Warren, M.A., *Moral Status. Obligations to persons and other living things*, Oxford University Press 2000
- Wenz, P.S., *Environmental Justice*, Albany: State University of New York Press 1988

Literatuurverwijzingen technologische alternatieven

- Appleby, B. M., S. J. Petty, J. K. Blakey, P. Rainey, and D. W. Macdonald. 1997. Does variation of sex ratio enhance reproductive success of offspring in tawny owls (*Strix aluco*). *Proceedings of the Royal Society of London B* 264:1111–1116
- Badyaev AV, Schwabl H, Young RL, Duckworth RA, Navara KJ, Parlow AF. Adaptive sex differences in growth of pre-ovulation oocytes in a passerine bird. *Proc Biol Sci*. 2005, 22;272(1577):2165-72
- Barton, N. R. & Goldstein, L. S. B. 1996 Going mobile: microtubule motors and chromosome segregation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 93, 1735–1742
- Bruggeman V, Van As P, Decuyper E. 2002. Developmental endocrinology of the reproductive axis in the chicken embryo. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 131(4):839-46
- Cazemajor, M., Dominique, J., Montchamp-Moreau, C. 2000. Sex-ratio meiotic drive in *Drosophila simulans* is related to equational nondisjunction of the y chromosome. *Genetics* 154: 229-236.
- Cha SJ, Mori A, Chadee DD, Severson DW, 2006. Cage trials using an endogenous meiotic drive gene in the mosquito *Aedes aegypti* to promote population replacement. *Am J Trop Med Hyg*. 2006 74: 62-8
- Clinton, M., 1994. A rapid protocol for sexing chick embryos (*Gallus g. domesticus*), *Animal Genetics*, 25: 361-362
- Correa SM, Adkins-Regan E, Johnson PA. 2005. High progesterone during avian meiosis biases sex ratios toward females. *Biol Lett*. 1(2):215-8.
- Cunningham EJA and Russell AF 2001. Reply to Petrie et al. 2001: *Nature*. 2001, 412: 498-9
- De Villena, F. P. M. & Sapienza, C. 2001. Nonrandom segregation during meiosis: the unfairness of females. *Mammalian Genome* 12, 331–339
- Durcova-Hills G, Hajkova P, Sullivan S, Barton S, Surani MA, McLaren A. 2006. Influence of sex chromosome constitution on the genomic imprinting of germ cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 11184-8
- Dyson EA, Hurst GDD. 2004. Persistence of an extreme sex-ratio bias in a natural population. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 6520-6523.
- Ebensperger C, Drews U, Wolf U. 1988. An in vitro model of gonad differentiation in the chicken. Estradiol-induced sex-inversion results in the occurrence of serological H-Y antigen. *Differentiation*. 37(3):192-7.
- Ellis, P. J. I., Clemente, E.J., Ball, P., Toure, A., Ferguson, L., Turner, J. M. A., Loveland, K. L., Affara, N. A., Burgoyne, P. S. . 2005. Deletion on the mouse yq lead to upregulation of multiple x- and y-linked transcripts in spermatids. *Human Molecular Genetics* 14: 2705-2715.
- Gard, D. L. 1992. Microtubule organization during maturation of *Xenopus* oocytes: assembly and rotation of the meiotic spindles. *Dev. Biol.* 151, 516–530
- Gill, D.V., H.A. Robertson, and T.W. Betz 1983. "In Vivo Estrogen Synthesis by the Developing Chicken (*Gallus gallus*) Embryo", *Gen Comp. Endo.*, 49 176-186.
- Glahn, R.P., W.J. Mitsos, and R.F. Wideman, Jr., "Evaluation of Sex differences in embryonic heart rates", *Poultry Sci.*, 66 (1987) 1398-1401.
- Griffiths, R., Double, M.C., Orr, K., Dawson, R.J.G., 1998. A DNA test to sex most birds. *Mol. Ecol.* 7, 1071– 1075
- Heinsohn R, Legge S, Barry S. 1997. Extreme bias in sex allocation in Eclectus parrots. *Proc R Soc Lond B* 264:1325–9
- Johnston PA, Liu H, O'Connell T, Phelps P, Bland M, Tyczkowski J, Kemper A, Harding T, Avakian A, Haddad E, Whitfill C, Gildersleeve R, Ricks CA. 1997. Applications in in ovo technology. *Poult Sci*. 76(1):165-78
- Kagami H, Clark ME, Verrinder Gibbins AM, Etches RJ. 1995. Sexual differentiation of chimeric chickens containing ZZ and ZW cells in the germline. *Mol Reprod Dev*. 42(4):379-87.
- Kankova S, Sulc J, Nouzova K, Fajfrlik K, Frynta D, Flegl J. 2007. Women infected with parasite *Toxoplasma* have more sons. *Naturwissenschaften*. 94: 122-7
- Klein S, Rokitta M, Baulain U, Thielebein J, Haase A, Ellendorff F. 2002. Localization of the fertilized germinal disc in the chicken egg before incubation. *Poult Sci*. 81(4):529-36.
- Komdeur J, Magrath MJL, Krackow S. 2002. Pre-ovulation control of hatchling sex ratio in the Seychelles warbler. *Proc R Soc Lond B* 269:1067–72
- Korsten P, Lessells CM, Mateman AC, Van der Velde M, and Komdeur J. 2006. Primary sex ratio adjustment to experimentally reduced male UV attractiveness in blue tits. *Behavioral Ecology* doi:10.1093/beheco/arj061 Advance Access publication 24 March 2006. © The Author 2006. Published by Oxford University Press on behalf of the International Society for Behavioral Ecology
- Krackow, S. 1995. The developmental asynchrony hypothesis for sex ratios manipulations. *J. Theor. Biol.* 176, 273–280
- Laughlin, K.F., H. Lundy and J.A. Tait, 1976. "Chick embryo heart rate during the last week of incubation: Population Studies", *Br. Poult. Sci.*, 17 293-301.
- LeMaire-Adkins, R. & Hunt, P. A. 2000. Nonrandom segregation of the mouse univalent X chromosome: evidence of spindle-mediated meiotic drive. *Genetics* 156, 775–783
- Love OP, Chin EH, Wynne-Edwards KE, Williams TD. 2005. Stress hormones: a link between maternal condition and sex-biased reproductive investment. *Am Nat*. 166(6):751-66
- McQueen H, McBride D, Miele G, Bird AP, Clinton M. 2001. Dosage compensation in birds, *Curr. Biol.* 11: 253-251
- Montenegro, H., Hatadani, L. M., Medeiros, H. F., Klaczko, L. B. 2006. Male killing in three species of the tripunctata radiation of *drosophila* (diptera: *Drosophilidae*). *The Authors JZS* 44: 130-135

- Nager RG, Monaghan P, Griffiths R, Houston DC, Dawson R. 1999. Experimental demonstration that offspring sex ratio varies with maternal condition. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 19;96(2):570-3
- Petitte J.N. and A.E. Kegelmeyer. 1992. "Sex Determination of chick embryos using a W chromosome-specific oligonucleotide probe and PCR", *Proceedings of the XIX World's poultry Congress, Amsterdam* 531.
- Petrie M, Schwabl H, Brande-Lavridsen N, Burke T. 2001. Maternal investment. Sex differences in avian yolk hormone levels. *Nature.* 412: 498-9
- Pike TW, Petrie M. 2003. Potential mechanisms of avian sex manipulation. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 78, 553–574
- Pike TW, Petrie M. 2005. Offspring sex ratio is related to paternal train elaboration and yolk corticosterone in peafowl. *Biol Lett.* 1(2):204-7
- Pike TW, Petrie M. 2006. Experimental evidence that corticosterone affects offspring sex ratios in quail. *Proc Biol Sci.* 7;273(1590):1093-8
- Presgraves DC, Severance E, Wilkinson GS, 1997. Sex chromosome meiotic drive in stalk-eyed flies. *Genetics.* 197 147: 1169-80
- Ricks CA, Mendu N, Phelps PV. 2003. The embryonated egg: a practical target for genetic based advances to improve poultry production. *Poult Sci.* 82(6):931-8
- Rima Dada, M. E. Ahmad, Rashmi Talwar and Kiran Kucheria 2002; <http://www.priory.com/med/xx.htm>
- Rosenfeld CS, Roberts RM. 2004. Maternal diet and other factors affecting offspring sex ratio: a review. *Biol Reprod.* 71(4):1063-70
- Sheldon BC, Andersson S, Griffith SC, Örborg J, Sendecka J. 1999. Ultraviolet colour variation influences blue tit sex ratios. *Nature* 402:874–7
- Smith CA and Sinclair AH. 2004. Sex determination: insight from the chicken. *BioEssays* 26;2: 120-132
- Szyda J, Simianer H, Lien S. 2000. Sex ratio distortion in bovine sperm correlates to recombination in the pseudoautosomal region. *Genet Res.* 75(1):53-9
- Tanabe, Y., T. Nakamura, K. Fujioka, and O. Doi,. 1979. "Production and secretion of sex steroid hormones by the testis, the ovary and the adrenal glands of embryonic and young chickens (*Gallus domesticus*)", *Gen. Comp. Endo.* 39 26-33.
- Trivers RL, Willard DE. 1973. Natural selection of parental ability to vary the sex-ratio of offspring. *Science* 179:90–2
- Uryu, N., Nagata, Y., Ito, K., Saitoh, H., and Mizuno, S., 1989. Research Note: Determination of the Sex of Chickens by a Biotin-Labeled Deoxyribonucleic Acid Probe, *Poultry Sci.* 68: 850-853.
- Veiga JP, Vinuela J, Cordero PJ, Aparicio JM, Polo V. 2004. Experimentally increased testosterone affects social rank and primary sex ratio in the spotless starling. *Horm Behav.* 46(1):47-53
- Ward, M. A., Burgoyne, P.S. 2006. The effects of deletions of the mouse y-chromosome long arm on sperm function - intracytoplasmic sperm injection (icsi)- based analysis. *Biology of Reproduction* 74: 652-658