

DE GENETISCHE ANALYSE VAN KWANTITATIEVE KENMERKEN

OPENBARE LES

GEHOUDEN BIJ DE AANVAARDING VAN HET
AMBT VAN LECTOR IN DE ERFELIJKHEIDSLEER
AAN DE LANDBOUWHOGESCHOOL TE WAGENINGEN
OP VRIJDAG 14 APRIL 1967

DOOR

Dr. Ir. J. H. VAN DER VEEN



H. VEENMAN & ZONEN N.V. - WAGENINGEN

*Mijne Heren Leden van het Bestuur van de
Landbouwhogeschool,
Mijnheer de Rector Magnificus,
Dames en Heren Hoogleraren, Lectoren,
Docenten en Wetenschappelijke Medewerkers,
Dames en Heren Studenten,
en voorts Gij allen, die door Uw aanwezigheid
blijk geeft van Uw belangstelling,*

Zeer geachte Toehoorders,

Wanneer ik U voorstel om bij onszelf, de mens, te beginnen, is dit niet zo zeer naar aanleiding van de boeiende ontwikkelingen welke de laatste 10 jaar in de cytogenetische, de populatie-genetische of de moleculair-genetische sfeer hebben plaats gevonden, en op grond waarvan we nu onszelf, naast bananevliegjes, muizen en zijderupsen, tot de genetisch best onderzochte diersoorten mogen rekenen. Mijn motief is veeleer dat de mens historisch gezien een zekere prioriteit geniet als object van onderzoek naar kwantitatief genetische kenmerken, want déze vormen het onderwerp waarvoor ik Uw aandacht zou willen vragen, terloops opmerkend dat facetten van plantaardige en dierlijke productie als opbrengst, gehalte en vroegrijpheid, in vele gevallen tot de categorie der kwantitatief genetische kenmerken behoren.

In 1889 beschreef GALTON in zijn boek „Natural Inheritance” de pogingen om langs mathematisch-statistische weg inzicht te verkrijgen in de vererving van lichaamslengte en andere eenvoudig te meten aspecten van het menselijk phenotype. Uit de voor verschillende afmetingen gevonden positieve correlaties tussen ouders en kinderen, tussen kinderen onderling, en ook uit vergelijkingen van tweelingen, werd terecht geconcludeerd dat een belangrijk deel der in de populatie aanwezige variatie moest berusten op genetische verschillen.

Nu noemen we onze lengte een kwantitatief kenmerk, niet in de eerste plaats omdat het voor de hand ligt dit kenmerk in meeteenheden uit te drukken, maar vooral omdat bij een blik op de frequentiegrafiek blijkt dat tussen de extreme waarden alle mogelijke gradaties voorkomen. Zoals bij vele continu verdeelde kenmerken van planten en dieren het geval is, is ook hier de verdeling tevens symmetrisch en laat zij zich adaequaat beschrijven door een mathematisch model dat bekend is onder de naam „normale verdeling”.

Het is duidelijk dat een der sleutels tot MENDEL's succes lag in

het feit dat hij zich beperkte tot de analyse van typisch *kwalitatieve* kenmerken. Hierbij laat de variabiliteit zich onderbrengen in een aantal contrasterende klassen, zoals gele versus groene zaadlobben, en inderdaad ook lange versus korte stengels. Wanneer in dit verband van kwantitatief en kwalitatief gesproken wordt, mag niet vergeten worden dat er een breed tussengebied bestaat, waarbij twee- of meertoppige continue verdelingen een karakteristiek moment vormen.

De keuze van GALTON en zijn navolgers was echter gevallen op typisch kwantitatieve kenmerken, bovendien nog bij een object dat geen experimentele kruisingsschema's toelaat, en geen systematische polygamie vertoont, zodat voor de zo informatieve vergelijkingen tussen halfzusters, of tussen halfbroers, onvoldoende gegevens beschikbaar zijn. Verder zijn er een tweetal factoren die kunnen leiden tot overschatting van de genetische bijdrage tot gelijkenis tussen nauwe verwanten, want ten eerste ondergaan leden van eenzelfde gezin gemeenschappelijke milieuvloeden, en ten tweede bestaat er voor een aantal kwantitatieve kenmerken een positieve genetische correlatie tussen echtgenoten, zodat bijvoorbeeld de correlatie tussen vaders en zoons hoger uitvalt dan bij huwelijken op basis van loting het geval zou zijn. Dergelijke en andere complicaties zijn er de oorzaak van dat wij, ook heden ten dage nog, slechts een zeer beperkt inzicht hebben in de populatiegenetische aspecten van een bijzonder intrigerend kwantitatief kenmerk, namelijk die facetten van ons rationeel gedrag welke door deskundigen gemeten worden in eenheden I.Q.

Het valt te begrijpen dat de biometrici geen enkel aanknopingspunt konden vinden bij de herontdekte Mendelregels. Hun formuleringen doen denken aan de 19e-eeuwse theorie der „blending inheritance”, welke inhield dat de genetische bijdragen der ouders zich vermengen als twee vloeistoffen om daarna niet meer te ontmengen, hetgeen een voortdurende nivellering der genetische verschillen impliceert. Dit neemt niet weg dat de biometrici belangrijke methodologische grondslagen hebben gelegd voor latere ontwikkelingen, en dat de oprichting van het tijdschrift „Biometrika” in 1901 als een duidelijke mijlpaal mag worden beschouwd.

Het zal U niet verwonderen dat de analyse van kwantitatieve kenmerken nog steeds berust op het vergelijken van ouders en nakomelingen, van moeders en dochters in geval van het melkvee; of op het vergelijken van de verschillen tussen groepen verwanten met de binnen deze groepen gevonden verschillen, bijvoorbeeld varianties tussen- met varianties binnen halfzuster groepen bij dieren en kruisbevruchtende planten, of varianties tussen- met varianties binnen F_3 -families bij zelfbevruchtters. Waar het materiaal zich leent tot ruim opgezette experimenten, kunnen verschillende kruisingsschema's leiden tot meerdere simultane vergelijkingen in zinvolle

onderlinge samenhang.

Bij dit alles is het niet alleen de bedoeling om na te gaan in hoeverre de gemeten variatie berust op verschillen in erfelijke aanleg, maar daarenboven ook in hoeverre de gegeven genetische verschillen, bij een bepaald kruisingsregime in de populatie, als aangrijpingspunt voor succesvolle selectie kunnen dienen. Kortom, we willen weten hoe groot de „heritability” is. Maar dan kunnen we niet volstaan met op ongenueanceerde wijze te spreken over verschillen in genotype, immers deze verschillen komen niet steeds in het phenotype tot uiting. Zo kunnen bij volledige dominantie de heterozygoten en de daarop gelijkende homozygoten pas onderscheiden worden op grond van hun nakomelingen. Als we langs deze lijn doorredeneren dan volgt uiteindelijk de conclusie, dat de verhouding van tussen- en binnen-familie varianties afhankelijk is van de graad van dominantie, of met andere woorden: bij de genetische interpretatie der verschillende uit het materiaal te schatten variantiecomponenten moet rekening gehouden worden met het effect van dominantie.

Een belangrijke bijdrage tot de mathematische aanpak van dit probleem werd geleverd door de geneticus-statisticus R. A. FISHER. Zijn in 1918 verschenen verhandeling droeg de veelbetekenende titel: „The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance”. Het was duidelijk dat tevens rekening gehouden moest worden met complementaire genen, epistasie, kortom met alle denkbare vormen van zogenoemde niet-allele interactie. Het gelukte echter pas na 1950 deze aspecten met behulp van bevredigend gedefinieerde interactie-parameters in de biometrisch-genetische modellen op te nemen. Verdere uitbreiding der modellen is nodig naar aanleiding van de verschillende vormen van genotype-milieu interactie, welke niet alleen van theoretisch-, maar ook van groot praktisch belang zijn.

Met deze vluchtige en onvolledige opmerkingen heb ik willen aangeven hoe vanuit de problematiek der kwantitatieve kenmerken een specialisme is ontstaan, waarbij statistisch geïnteresseerde genetici en genetisch geïnteresseerde statistici nauw samenwerken. Vele ontwikkelingen in de biometrische genetica zijn interessant genoeg voor een nadere bespreking, maar bij gebrek aan bord en krijt zie ik hiervan af, een excuus dat bij een gelegenheid als deze ongetwijfeld wel eens eerder is aangevoerd. In plaats daarvan zou ik willen stilstaan bij de langs formeel genetische weg te verkrijgen informatie over kwantitatieve kenmerken.

Wanneer we hiertoe opnieuw de draad van de geschiedenis opvatten, dan zien we dat na de eeuwwisseling een tweetal problemen op nadere oplossing wachtten alvorens men kon komen tot een aanvaardbare generalisering der Mendelwetten tot kwantitatieve ken-

merken. Ten eerste diende, ook in analytische zin, de bijdrage der genetische verschillen tot de totale variatie gescheiden te worden van de bijdrage der niet-genetisch bepaalde verschillen. Het tweede probleem was gelegen in de denkgewoonte dat voor elk kenmerk, of een te omschrijven aspect daarvan, slechts één genenpaar verantwoordelijk zou zijn. Het is in dit verband de moeite waard het baanbrekend werk van JOHANSEN en van NILSSON-EHLE kort te memoreren.

Aan eerstgenoemde danken wij behalve het begrip „zuivere lijn” bij zelfbevruchters, ook de verhelderende termen „genotype” en „phenotype”, en en passant natuurlijk de term „gen”. Uitgaande van een landras van *Phaseolus vulgaris* werden door hem 19 planten individueel afgeogst. De nakomelingschappen verschilden op karakteristieke wijze in zaadgewicht, waarbij het laagste en het hoogste gemiddelde gewicht 351 en 642 milligram bedroegen. Hoewel ook elke familie afzonderlijk een grote continue phenotypische variatie vertoonde, bleek verdere selectie op gewicht binnen deze families geen resultaat op te leveren. Reeds MENDEL formuleerde op mathematisch exacte wijze hoe bij zelfbevruchting de homozygotie van generatie op generatie toeneemt, zodat tenslotte volledig homozygote individuen bij zelfbevruchting homozygote en genotypisch volkomen aan elkaar gelijke nakomelingen geven. JOHANSEN concludeerde dan ook dat zijn bonenras bestond uit een mengsel van dergelijke zuivere lijnen. Gelukkig had onder de Deense proefomstandigheden practisch geen kruisbestuiving door insecten plaats gevonden. De opmerking dat selectie alleen effectief is bij reeds aanwezige verschillen in genotype, en geen genetische variabiliteit doet ontstaan, was voor die tijd niet geheel overbodig.

Het voor ons doel belangrijkste inzicht is, dat bij zelfbevruchten de planten de zuivere lijnen kunnen dienen als maatstaf voor de niet-genotypische variatie. Deze variatie noemen we gemakshalve milieuvariatie, maar zij resulteert behalve uit tastbare en ontastbare milieuverschillen, natuurlijk ook uit endogene fluctuaties tijdens groei en ontwikkeling.

Pas in 1935 werd door EAST een kleine kanttkening geplaatst bij het begrip zuivere lijn. Bij tabak komen spontaan verdubbelde monoploïden voor, en over de nakomelingschappen uit deze volmaakt homozygote individuen zegt hij: „One may rest assured, however, that the individuals in each of these populations were more strikingly similar than those of any ordinary inbred populations that I had ever examined”. Maar na 3 à 4 generaties zelfbevruchting was het „normale niveau” van variabiliteit teruggekeerd: „A result which could only have come about from frequent small mutations”. Een jaar later leidde HALDANE af dat er tussen afvoer van heterozygotie door zelfbevruchting en aanvoer hiervan door mutatie, een evenwicht ontstaat, zódanig dat in een gegeven individu op een gegeven

locus de kans op heterozygotie vier maal de mutatiefrekwentie draagt. Met andere woorden, bij een mutatiefrekwentie van 1 op 10.000 verwachten we onder 10.000 loci, dat er per individu 4 heterozygoot bezet zullen zijn. Het verschijnsel werd in 1960 herontdekt door SPRAGUE, die uitgaande van spontaan verdubbelde maismonoploïden, gedurende 3 tot 6 generaties onder voortdurende zelfbevruchting selekteerde op verschillende kwantitatieve kenmerken. Via statistische analyse der resultaten kwam hij tot de tastende conclusie dat er per kenmerk 4 à 5 mutaties per 100 gameten zouden optreden. Het is opvallend hoe zelden deze waarnemingen geciteerd worden.

Het onderzoek van NILSSON-EHLE is uit de leerboeken ruimschoots bekend. Het contrast rode versus blanke korrel bij tarwe bleek bepaald te kunnen worden door telkens één van drie verschillende genenparen met intermediaire vererving. De allelen voor rood hadden ongeveer hetzelfde effect op de kleurintensiteit, ze waren isomeer. Bij bifactoriele splitsing met de F_2 -verhouding 15 rood : 1 blank, waren de verschillen in kleurintensiteit proportioneel met het aantal gecumuleerde rood-allelen, zoals bleek uit een systematisch uitgevoerde F_3 -toets. Met enig puzzelen kan men zich ervan overtuigen dat hier, van donkerrood tot wit, 5 kleurtypen voorkomen, waarvan sommige nauwelijks of niet te onderscheiden, en wel met de frekwentieverhouding 1 : 4 : 6 : 4 : 1. Waren de effecten der rood-allelen geringer geweest en tevens de milieuvariatie groter, dan was in alle families een continue symmetrische verdeling voor de kleurintensiteit ontstaan.

Het is de verdienste van EAST en EMERSON geweest de methode der zuivere lijnen te combineren met het inzicht dat inderdaad meerdere genenparen hetzelfde kenmerk kunnen beïnvloeden. Dat polymere genen door EAST multipele factoren genoemd werden is van ondergeschikt belang. Veel later zou trouwens MATHER de term polygenen invoeren. Het meest bekende onderzoek van EAST is dat aan de kroonbuislengte van twee in dit opzicht sterk contrasterende variëteiten van *Nicotiana longiflora*. Het F_1 - en ook het F_2 -gemiddelde ligt ongeveer halverwege beide ouders. De verdeling in de F_2 is continu en symmetrisch, doch de spreiding is duidelijk groter dan in de F_1 , als gevolg van het feit dat nu naast milieuvariatie ook genotypische variatie optreedt, zoals blijkt uit de selectieresultaten in de F_3 en volgende generaties. Dat in de F_2 de extreme waarden der ouders weinig frekwent waren, is niet verrassend wanneer we bedenken dat recombinaties met uitsluitend plus- of uitsluitend min-allelen des te zeldzamer zijn naarmate de F_1 voor meer genenparen heterozygoot is.

Een volkomen vergelijkbare situatie verkregen EAST en EMERSON na kruising van een pof- en een suikermals met respectievelijk korte en lange kolven. Weliswaar waren dit geen zuivere lijnen, maar dat

hoefde geen bezwaar te zijn voor een analoge interpretatie. Toename van de F_2 -variatie ten opzichte van die in de F_1 , werd door hun ook gevonden na kruising van twee tabaksvariëteiten met een ongeveer gelijk aantal bladeren. In dit geval zijn plus- en min-allelen gelijkelijk over de beide ouders verdeeld. Via een op meerdere loci heterozygote F_1 ontstaat dan in de F_2 een uitgesproken transgressie aan weerszijden van het ouderlijk traject.

Latere onderzoeken door vele auteurs aan een grote verscheidenheid van objecten en kenmerken, gaven in principe steeds weer hetzelfde beeld. In principe, want varianten zijn legio. Zo kan de F_1 dicht bij een der ouders liggen, hetgeen wijst op dominantie of op interactie tussen allelen op verschillende loci. Omgekeerd betekent een intermediaire F_1 nog niet dat er geen dominantie optreedt, immers dominantie van plus-allelen op sommige loci en van min-allelen op andere loci kan elkaar in de F_1 compenseren. Ook symmetrie in de F_2 impliceert geen afwezigheid van dominantie. Weliswaar ontstaat bij 2 isomere genenparen met volledige dominantie in dezelfde richting, de duidelijk scheve verdeling 9 : 6 : 1, afgeleid van de bekende verhouding 9 : 3 : 3 : 1, maar bij 4 genenparen ontstaat reeds de meer symmetrische verdeling 81 : 108 : 54 : 12 : 1. Uit de vorm der verdelingen valt dan ook weinig te zeggen over de doorsnee effecten in een polygen systeem. Om hierover informatie te verkrijgen richt de biometrisch-genetische analyse zich op de vergelijking van gemiddelden of varianties van meerdere generaties, waaronder vooral ook terugkruisingen en F_3 's.

Een vaak optredende complicatie is het verschil in variatie tussen de beide ouders. Zo zal, vooral wanneer een bloeitraject zich tot in de nazomer uitstrekt, de laatbloeiende ouder een grotere variatie vertonen dan de vroegbloeiende. De F_1 kan dan dicht bij de vroege ouder liggen, terwijl de F_2 -verdeling aan de vroege kant een steile helling vertoont en aan de late kant een lange geleidelijke afdaling. U weet dat op logaritmische schaal het verschil tussen 10 en 20 even groot is als dat tussen 100 en 200. In verschillende gevallen bleek dan ook, dat na logaritmische transformatie vanuit een geschikt nulpunt het verschil in variatie der ouders verdween, de F_1 een intermediaire ligging aannam, en de F_2 -verdeling symmetrisch werd. In verband hiermede moet opgemerkt worden dat effecten als dominantie en niet-allele interactie in hun grootte afhankelijk zijn van de schaal van meting. Wanneer de F_1 heterose vertoont, kan dit uiteraard niet op zinvolle wijze weggetransformeerd worden. Scheve frekwentieverdelingen worden ook veelvuldig aangetroffen in populaties van kruisbevruchtende planten en van dieren. Analooq aan wat ze zagen voor de bloeitijd bij planten, is bij het pluimvee de verdeling van het typisch kwantitatieve kenmerk leeftijd-bij-het-begin-van-de-leg, des te schever naarmate de kuikens later in het voorjaar uitgebroed worden en derhalve de invloed van

kortere dag en lagere lichtintensiteit in de nazomer groter wordt.

Dat de genotypische variatie bij kwantitatieve kenmerken inderdaad berust op in de chromosomen gelegen genen, werd bevestigd door vele gevallen van associatie van kwantitatieve verschillen met genen voor kwalitatieve kenmerken, zogenaamde „markers”. SAX vermeldt in 1923 een kruising tussen een lijn van *Phaseolus vulgaris* met grotere gekleurde zaden en een andere lijn met kleinere witte zaden. Het gewichtsverschil tussen de beide kleurhomozygoten in de F₂ bedroeg nog 43 milligram, hetgeen ruim 30% van het ouderlijk verschil is. Uit de gegevens kan niet beslist worden of er sprake moet zijn van koppeling met de bloemkleurgenen dan wel van een pleiotroop effect hiervan. Het gelukte RASMUSSEN echter een soortgelijke associatie tussen een bloemkleurlocus en de bloeitijd bij *Pisum sativum* te verbreken door selectie op recombinaties in de F₂.

Een der onlangs door ons bestudeerde *Phaseolus* kruisingen was die tussen een kleinzadige lijn en een lijn met zaden van normale grootte. Een tweetal markers voor de zaadhuidkleur leidde in de F₂ tot de phenotypenverhouding 9 : 3 : 3 : 1. Het kleurphenotype van de kleinzadige ouder kwam hierin voor met de frekwentie 3 op 16, en haar gemiddeld zaadgewicht lag ongeveer 200 milligram onder dat der 3 overige kleurphenotypen, dat is ongeveer evenveel als het ouderlijk verschil. In de frekwentieverdeling der F₂-zaadgewichten werd het kleinzadige type slechts geïndiceerd door een lichte golfing aan de linkerkant der curve, daar tevens een belangrijke milieuvariatie optrad, alsmede variatie door uitsplitsing van andere gewichtsgenen. Dezelfde kleinzadige lijn werd ook gekruist met een zwaardere lijn welke niet met de eerstgenoemde kruisingspartner verwant is. In de F₂ splitsten dezelfde markers uit, zonder dat hiermee gewichtsverschillen geassocieerd waren. Het is daarom waarschijnlijk dat de markers geen pleiotroop effect op het zaadgewicht hebben, en dat derhalve koppeling in het spel was. Nu zijn van het type niet-allele interactie dat tot een 13 : 3 verhouding leidt enige voorbeelden bekend voor kwalitatieve kenmerken, zoals 13 wit-vederig : 3 gekleurd na kruising van recessief witte en dominant witte kippen, en 13 rood : 3 rozebloemig na kruising van recessief rode met dominant rode tabak. Maar naar mijn weten is dit de eerste keer dat ook voor kwantitatieve kenmerken een dergelijke interactie is gevonden.

Met behulp van markertechnieken en andere elegante kunstgrepen welke de *Drosophila*-geneticus ter beschikking staan, kon door MATHER aangetoond worden dat zowel in het X-chromosoom als in de chromosomen II en III meerdere genen liggen welke het aantal borstelharen op verschillende lichaamssegmenten beïnvloeden, en door CROW, dat bij selectie op DDT resistentie, genen op al deze drie chromosomen hadden bijgedragen tot het bereikte succes. Nog een stap verder gingen BREESE en MATHER door chromosoom III in

6 segmenten te verdelen en voor elk segment activiteit ten aanzien van het aantal borstelharen te constateren. De term polygen systeem wordt hier dus wel met recht gebezigd.

Bij een recent verleden aangekomen, verzoek ik U nogmaals terug te keren tot de tijd van JOHANNSEN, NILSSON-EHLE en EAST, want ook na 1910 werd de oppositie tegen de Mendelistische interpretatie van continue variatie nog langdurig volgehouden. Dit latere verzet kwam niet zozeer van de kant der voormalige aanhangers van verschillende met „blending inheritance” te associëren opvattingen, maar enigszins onverwacht van de kant van CASTLE, die toch zeer tijdig de aandacht der Amerikaanse biologen op de herontdekte Mendelwetten had gevestigd.

De bezwaren van CASTLE waren gericht tegen de opvatting dat genen, behoudens mutatie, integere eenheden zouden zijn. De aanleiding tot deze bezwaren waren de door hem verrichte selectieproeven in een rattenstam van het „piebald” type. Het phenotype „bonte vacht” is monofactorieel recessief ten opzichte van het wild-type. Selectie in de bonte stam op respectievelijk uitbreiding en inkrumping van het gekleurde oppervlak leidde na ruim 10 generaties tot twee sterk contrasterende lijnen. Enerzijds een donkere lijn waarin de meest extreme individuen bijna geheel effen gekleurd waren, anderzijds een lichte lijn, waarin sommige dieren op een kopvlek na wit waren. De kruising van deze lichte lijn met een stam van het wild-type gaf een wild-type F_1 . Onder de recessieve F_2 -dieren nu kwamen de extreem lichte varianten niet voor; de variatie in bontheid was ongeveer dezelfde als in de oorspronkelijke bonte stam. CASTLE's verklaring was dat in de F_1 het gen voor bont steeds, hoewel in uiteenlopende mate, gecontamineerd wordt door zijn wilde allel.

Tegenover deze vorm van conversietheorie, geeft het model der multipelen factoren een geheel bevredigende verklaring: In de oorspronkelijke bonte stam splitsten meerdere niet te identificeren genenparen uit die het bonte phenotype modifieren, zodat selectie op deze modifiers leidde tot de twee sterk contrasterende lijnen. In de F_2 van de lichte lijn met de wild-type stam zijn voorts recombinanten met bijna uitsluitend modifiers in lichte richting zeldzaam.

Een 22-jarige student die in deze zin kritiek had geleverd, werd door CASTLE als „seriously disturbed” gekwalificeerd in een publicatie anno 1914 onder de titel „Mr. Muller on the constancy of Mendelian factors”. Overigens liet de genoemde student H. J. MULLER een 15 jaar later overtuigend zien dat genen inderdaad vrij frekwent kunnen veranderen, maar dan onder invloed van ioniserende stralen.

De beslissing ten gunste van de modifier hypothese lag bij nader inzien in CASTLE's eigen materiaal opgesloten. Na kruising van de

wild-type stam met de andere lijn, dus met de donkere selectie, waren de in de F_2 terugkerende bonte dieren niet nóg donkerder, zoals uit de contaminatietheorie zou volgen, maar integendeel lichter. Blijkbaar bevatte de wild-type stam een verborgen dosis van modifiers in de richting van licht. Deze modifiers komen in het wild-type niet tot expressie, maar hun frekwentie was ongeveer te vergelijken met die in de oorspronkelijke „piebald” stam.

Beïnvloeding van de expressie van hoofdgenen door modificerende genen is een zeer algemeen verschijnsel. Dit betreft niet alleen het recessieve type, zoals in het juist gegeven voorbeeld, maar ook en vooral het phenotype van de heterozygoot. De pluimvee-geneticus is vertrouwd met het effect van modifiers op de intensiteit en daarmee vaak samenhangend de uitbreiding van de veerkleur, en hij zal geneigd zijn deze modifiers intensiteitsgenen te noemen. Vooral waar intensiteitsverschillen tot uiting komen in een locale uitbreiding van de kleur, kan in eerste instantie met visuele waarneming volstaan worden, en hoeven geen speciale meettechnieken toegepast te worden. In dit opzicht vormt het volgende voorbeeld een goede illustratie.

Bij *Nicotiana rustica* wordt het anthocyaan-gehalte van verschillende bloedelen weerspiegeld door een aan het vruchtbeginsel waar te nemen gradient, welke loopt van volledig zwart via respectievelijk zwart met groene punt, basale gedeelte zwart, zwart waas aan de basis, tot aan volledig groen. Bij het zoeken naar geschikte „markers” in verband met een bepaald proefschema, bleek bij één van onze kruisingen het ouderlijk contrast volledig groen- versus volledig zwart vruchtbeginsel te berusten op één genenpaar. De F_1 was intermediair, d.w.z. het vruchtbeginsel was basaal zwart en apicaal groen, met daartussen een smalle overgangszone. De relatieve uitbreiding van het anthocyaan vertoonde in deze isogene F_1 een grote variatie. Hierbij bleek ten eerste de leeftijd van het vruchtbeginsel een belangrijke variatie oorzaak te zijn. Ter standaardisering en tevens optimalisering van de beoordeling werden daarom bloemen genomen op de 2e à 3e dag vóór het moment van opengaan. Ook dan nog resteert binnen de plant een aanzienlijke variatie van bloem tot bloem, hetgeen ons aanleiding gaf om telkens uit een aselekte steekproef van 10 vruchtbeginsels het voor de plant meest karakteristieke exemplaar te nemen als maatstaf bij het vergelijken van verschillende planten onderling. Op grond van dit criterium konden voorts niet alleen opvallende milieuverschillen tussen sommige veldjes in het proefterrein geconstateerd worden, maar tevens op zonnige dagen een geleidelijke afname van de intensiteit in de loop van de dag. Ter onderlinge vergelijking der terugkruisingen werden daarom deze families in alternerende rijtjes verbouwd ter eliminatie van mogelijke systematische milieuverschillen, en werd de beoordeling uitgevoerd bij koel, bewolkt weer. Zowel

de terugkruising met de groene- als die met de zwarte ouderlijn gaf een goede overeenstemming met de verwachte 1 : 1-verhouding. De heterozygoten, die in beide families voorkomen, lieten per familie een grote variatie in anthocyaanuitbreiding zien op de representatieve vruchtbeginsels. Uit het feit dat hun twee variatietrajecten elkaar slechts in geringe mate overlappen, mag geconcludeerd worden dat de ouderlijnen op meerdere modifier-loci verschillen, en wel zodanig dat de zwarte ouder homozygoot is voor overwegend de plus-allelen, de groene ouder homozygoot voor de corresponderende min-allelen.

Wanneer uit de terugkruising met de groene ouder, dié heterozygoten genomen worden welke het dichtst aansluiten bij volledig groen, dan geven deze uit zelfbevruchting de nakomelingenverhouding 3 groen en bijna geheel groen : 1 zwart. De heterozygoten met bijna geheel zwart vruchtbeginsel uit de andere terugkruising geven omgekeerd 1 groen : 3 zwart en bijna geheel zwart. Zo lijkt door selectie op modifiers de richting van dominantie volledig omkeerbaar. Het is natuurlijk de vraag of de modifiers uitsluitend de expressie van de heterozygoot beïnvloeden, immers bij de zwarte homozygoten kunnen eventuele intensiteitsverschillen visueel niet waargenomen worden.

Behalve dit genenpaar bestaat er nog een ander genenpaar, waarbij het recessieve type een volledig anthocyaanloze kroonbuis vertoont. In vergelijking hiermee is haar effect op het vruchtbeginsel weliswaar betrekkelijk gering, maar toch wel zodanig dat geheel zwart vrij frekwent verminderd wordt tot zwart met groene punt, en bijna geheel groen tot geheel groen. Het bleek dat voor kruisingen waarbij beide hoofdgenenparen gelijktijdig uitsplitsen, zowel in de F_2 als in de terugkruisingen een geheel continue verdeling der kleurintensiteiten van de „gemiddelde” vruchtbeginsels optrad, ondanks alle genoemde voorzorgen om de verschillende soorten niet-genetische variatie te elimineren. Een dergelijk materiaal geeft derhalve op zichzelf geen enkele aanleiding om het bestaan van de twee hoofdgenenparen te vermoeden.

Het is deze situatie waar ik geleidelijk naar toe heb willen werken door wat langer stil te staan bij het *N. rustica* voorbeeld. Want hiermee is een uitgangspunt gegeven voor het stellen van een dringende vraag, namelijk in hoeverre het mogelijk is om bij zich als typisch kwantitatief voordoende kenmerken, alsnog met enige volharding en vindingrijkheid hoofdgenen te identificeren. Wanneer bijvoorbeeld de helft van de genotypische variantie aldus te verklaren valt, mag dit als een zeer bevredigend resultaat beschouwd worden.

U moet echter niet verwachten dat in het nu volgende een soort genetische radar gepresenteerd zal worden, waarmee men door de nevel der continue variatie heen kan kijken. De gestelde vraag impliceert ook niet dat het steeds mogelijk zou zijn tot genotypische

identificatie te komen. Daartoe zijn uit de literatuur teveel voorbeelden te geven van zorgvuldige, doch niet tot het beoogde resultaat leidende analyses. En omgekeerd wil ook niet gezegd zijn dat er niet vele met succes bekroonde opsporingspogingen te vermelden vallen. De in de vijftiger jaren door QUINBY e.a. ver doorgevoerde analyse van de planthoogte bij *Sorghum vulgare* is in zekere zin uniek. Weliswaar beweegt dit kenmerk zich van kwantitatief in sommige kruisingen tot typisch kwalitatief in andere, maar desondanks blijft het vaststellen van een 8-tal loci een opmerkelijk feit. Vier van deze loci beheersen de lengte der internodien en ook op specifieke wijze het patroon der opeenvolgende lengten, de resterende vier beïnvloeden in afhankelijkheid van temperatuur en daglengte het tijdstip van bloei, dat wil zeggen de duur van de vegetatieve fase en daarmee het aantal bladeren alsmede de planthoogte.

Toch maakt dit alles de opgeworpen vraag niet minder relevant, en wel om de volgende reden. Na 1945 werden in steeds snellere opeenvolging een grote verscheidenheid van biometrisch-genetische analysemethoden ontworpen, vaak gericht op het verkrijgen van specifieke informatie, bijvoorbeeld in geval van heterosis informatie omtrent de relatieve bijdrage van enerzijds complementaire interactie en anderzijds overdominantie tot dit effect. (Welke conclusie bij dit laatste bereikt wordt is mijns inziens primair afhankelijk van de mate van koppeling tussen de bij het heterosiseffect betrokken loci, maar het zou te ver voeren dit op deze plaats nader uit te werken.) Dit arsenaal van methoden opende belangrijke theoretische en praktische perspectieven en er werd dan ook terecht veelvuldig gebruik van gemaakt. Sceptici begonnen zelfs van een modeverschijnsel te spreken. De keerzijde van de medaille is echter, dat vele der voor biometrisch-genetische analyse geëigende vormen van proefopzet meestal onvoldoende of geen mogelijkheid bieden eventuele hoofdgenen te ontdekken. De gang naar de rekenmachine is dan in zekere zin irreversibel.

Uit enkele der gebezigde formuleringen en ook uit de voorafgaande voorbeelden zult U wel vermoed hebben, dat de gedachten in de eerste plaats uitgaan naar objecten welke zich lenen tot het inrichten van experimenten op grotere schaal. En misschien is het alleen dán redelijk om aan te dringen op identificatie van hoofdgenen wanneer bovendien uitgegaan kan worden van zuivere lijnen, inteeltlijnen of contrasterende selecties. Hierbij immers bieden de in de afgeleide generaties theoretisch te verwachten splitsingsverhoudingen een duidelijk punt van houvast, niet alleen voor elk dezer generaties afzonderlijk, maar vooral bij onderlinge vergelijking der verschillende generaties.

Het is natuurlijk niet mogelijk vanmiddag op uitvoerige wijze al die wegen aan te geven welke zouden kunnen leiden tot identifica-

tie van hoofdgenenparen, en sommige wegen zullen ook niet meer dan terloops vermeld worden. Laten we met deze beginnen.

Bij het bestuderen van een kwantitatief kenmerk verdient het aanbeveling ook eens „op zij” of „in de diepte” te kijken. Zijdelings naar hoofdgenen welke mogelijk een pleiotroop effect op ons kenmerk vertonen, of zoals gezegd, via koppeling hiermee geassocieerd zijn. Het interessante onderzoek naar de samenhang tussen bloedgroepen en productie-aspecten bij onze huisdieren leverde tot nu toe slechts met vele onzekerheden omringde resultaten op. Een uitzondering vormt wellicht de associatie van bepaalde allelen in het B-bloedgroepensysteem van kippen met bepaalde componenten van vitaliteit en fertiliteit. Als voorbeeld van kijken „in de diepte” kan de door PRAKKEN verrichte analyse van de draadsterkte bij *Phaseolus vulgaris* worden aangehaald. Met behulp van een globale vaststelling van de sterkte kon in een F_2 splitsend voor een hoofdgenenpaar plus modifiers geen voldoende bevredigende klassificatie bereikt worden, maar bij anatomische inspectie bleek de homozygoot voor sterke draad steeds met volledige zekerheid te herkennen.

Alvorens tot genetische analyse over te gaan, zouden we een kwantitatief opbrengstkenmerk ook somatisch kunnen analyseren. Zo valt bij granen de plantopbrengst uit te drukken als aantal aren \times aantal korrels per aar \times korrelgewicht. De drie componenten variëren echter in het algemeen niet onafhankelijk van elkaar, en zijn op hun beurt weer kwantitatieve kenmerken. Van meer praktisch belang dan de individuele plantopbrengst is de opbrengst per oppervlakte eenheid, en als we nu bedenken dat het aantal per plant gevormde halmen afhankelijk is van de plantdichtheid, dan roeren we het probleem aan der onderlinge interferentie van planten, een terrein van onderzoek, waarbij belangwekkende ecologisch-genetische vraagstukken naar voren komen.

Het ligt voor de hand dat detectie van genotypische verschillen vergemakkelijkt wordt door een milieu dat homogeen is in de ruimte en eventueel constant in de tijd. De voordelen van klimaatkamers en selektiemesterijen in dit opzicht zijn duidelijk. Ook behoeft het geen betoog dat het milieu tot voldoende differentiatie moet leiden. Voor het opsporen van eventuele hoofdgenen voor koude- of ziekteresistentie, betekent dit een lage temperatuur respectievelijk een geslaagde infectie.

Een wat uitvoeriger bespreking verdienen de genetische analoga van deze milieu karakteristieken, namelijk ten eerste een grotere mate van uniformiteit van de genetische achtergrond waartegen hoofdgenen uitsplitsen, hetgeen bereikt kan worden door voortgezette zelfbevruchting of herhaalde terugkruising, ten tweede het projecteren van de uitsplitsing tegen een differentiërende genetische achtergrond. De auteurs van een bekend leerboek zeggen in hun voorwoord: „... genetics is essentially a ‚problem solving’ kind

of science," daarmee bedoelend dat inzichten het best verworven kunnen worden aan de hand van concrete problemen. Ter illustratie van hetgeen zojuist over de genetische achtergrond gezegd werd, zou ik dan ook het kort beschrijven van „case histories” nog even willen voortzetten.

Als voorbeeld van identificatie van hoofdgenen na toegenomen homozygotie van de genetische achtergrond kiezen we de kruising tussen de twee reeds eerder genoemde *Nicotiana rustica* lijnen. In 1961 bedroeg op ons proefveld hun verschil in datum van opengaan van de eerste bloem ongeveer 10 dagen, terwijl het planthoogte verschil 40 cm beliep. De vroege, korte ouderlijn bezit een compacte bloeiwijze, de late, lange lijn een gestrekte bloeiwijze in de vorm van een baanvegersbezem. Korthedshalve spreken we van „ragebollen” en „bezems”. De F_1 nu was een typische bezem, haar bloeitijd intermediair, terwijl zij in hoogte de langste ouder met 30 cm overtrof. Bloeitijd en hoogte waren in alle bestudeerde generaties continu verdeeld, terwijl in de F_2 ook de vorm van de bloeiwijze zich als een kwantitatief kenmerk gedroeg, daar als gevolg van uitsplitsende modifiers allerlei overgangen tussen compact en langgerekt voorkwamen. Wel bleken de meer typische ragebollen in de lagere lengteklassen te vallen.

Pas in de tweede terugkruisingsgeneratie met de recessieve ragebollijn, bleken de beide bloeiwijze typen zonder veel moeite van elkaar te onderscheiden, terwijl de bij twee duplicerende genenparen verwachte verhouding 7 bezems : 9 ragebollen goed werd benaderd. In de voor deze generatie gemaakte correlatiegrafiek van bloeitijd en planthoogte bleken de nu te onderscheiden ragebollen en bezems elk vertegenwoordigd door een schuin omhoog lopende langgerekt-elliptische puntenzwerm, en wel zonder noemenswaardige onderlinge overlapping. De twee bloeitijdsverdelingen vallen nagenoeg samen, maar het hoogteverschil tussen ragebollen en bezems is bijna zo groot als het ouderlijk verschil. Waar nu duidelijk blijkt dat er binnen elk type afzonderlijk een hoge positieve correlatie bestaat tussen bloeitijd en hoogte, is het niet vergezocht om te zeggen dat modifiers voor een voortgezette vegetatieve ontwikkeling zowel leiden tot een latere bloei als tot een grotere planthoogte. We komen zo tot de volgende verklaring van de door F_1 vertoonde heterose in hoogte. Deze F_1 is een typische bezem en bereikt op grond daarvan reeds de hoogte der bezemouder. Bovendien komen de uit de ragebolouder afkomstige genen voor latere bloei tot expressie en doordat deze genen tevens de hoogte beïnvloeden wordt de F_1 als het ware boven de bezemouder uitgeduwd. Het is mijn overtuiging dat geen der op het heterosisverschijnsel afgestemde biometrisch-genetische analysemethoden zou kunnen leiden tot deze eenvoudige verklaring.

Tenslotte het differentiërend effect van de genetische achter-

grond. Het bloeitijdsverschil van 4 dagen tussen twee zeer vroeg bloeiende typen van de onder kasomstandigheden strikte zelfbevruchter *Arabidopsis thaliana* leek aanvankelijk typisch polygen bepaald te zijn. Een derde lijn verschilde van de vroegste lijn op grond van een makkelijk te identificeren dominant allel voor latere bloei. Toen wij de F_1 van de vroege lijnen met deze derde lijn kruisten, vertoonden de nakomelingen een in het traject van latere bloei gelegen bimodale frekwentieverdeling, waarvan de toppen ruim 10 dagen uit elkaar lagen, en waarbij duidelijk een 1 : 1 verhouding werd geïndiceerd. Ook het verschil tussen de twee vroege lijnen berust derhalve grotendeels op één hoofdgenenpaar. De bimodaliteit is veel geprononceerder in de winter dan in de zomer: lage lichtintensiteit bleek een differentiërende milieufactor. Daar ongelijke kieming der zaden resulteert in bloeitijdsverschillen, welke uiteindelijk ook in de vergaarbak der milieuvariatie terecht komen, was zorg gedragen voor scherpe synchronisatie der kieming, onder meer door een koudebehandeling na wateropname.

Daar we met onszelf, de mens, begonnen zijn is er om redenen van symmetrie aanleiding ook bij onszelf te eindigen. Hierbij maken we een vrij grote gedachtensprong, een sprong van klassiek naar modern, zo U wilt. Bij zijn onderzoek naar enzym-polymorphisme in menselijke populaties vond HARRIS ten aanzien van het in het bloed voorkomend zuur-fosfatase, met behulp van gel-electrophorese en een geschikte kleurmethode, een zestal fosfatase phenotypen, welke naar alle waarschijnlijkheid corresponderen met zes op grond van drie allelen te verwachten genotypen. De drie homozygoten nu verschillen onderling duidelijk in niveau van kwantitatief te bepalen enzymactiviteit, terwijl elk der heterozygoten intermediair is tussen de twee bijbehorende homozygoten. Waar ook *binnen* elk der zes phenotypische klassen nog een betrekkelijk grote variatie in activiteit voorkomt, resulteert dit voor de gehele populatie in een continue eentoppige verdeling der activiteitsmetingen. Dit kwantitatieve kenmerk werd dus op bijzonder fraaie wijze gedemaskeerd.

Een dergelijk voorbeeld geeft aanleiding tot speculatieve gedachten, en om in dit verband zo kort en expliciet mogelijk te zijn, neem ik de vrijheid één zo'n speculatie hardop uit te spreken. Zo zou ik me kunnen voorstellen dat op een toekomstig symposium iemand zegt: In populaties van verschillende kruisbevruchtende planten treffen wij voor de vorming van het enzym nitraatreductase één of enkele loci aan, elk met een reeks iso-allelen, op grond waarvan soms kleine, maar soms ook grotere verschillen in metabolische efficiency en daarmee in opbrengst verklaard kunnen worden.

Op dit punt beland meen ik er goed aan te doen mijn betoog te beëindigen.

Zeer gewaardeerde Toehoorders,

Bij de officiële aanvaarding van het ambt van Lector in de Erfelijkheidsleer aan de Landbouwhogeschool zij het mij vergund Hare Majesteit de Koningin eerbiedig te danken voor deze benoeming.

Mijne Heren Leden van het Bestuur van de Landbouwhogeschool,

Ik ben U zeer erkentelijk voor het vertrouwen dat U, blijkens Uw voordracht tot mijn bevordering, in mij gesteld heeft. Ik verzeker U er naar te streven mijn taak zo goed mogelijk te vervullen.

Dames en Heren Hoogleraren, Lectoren, Docenten en Wetenschappelijke Medewerkers,

De prettige en leerzame contacten die ik met velen van U in de loop der jaren mocht hebben stel ik op hoge prijs, en ik verheug me op voortzetting en uitbreiding daarvan. Sommigen onder U droegen reeds in mijn studententijd bij tot mijn wetenschappelijke vorming, anderen ken ik slechts bij name, een haast onvermijdelijk gevolg van de grote veelzijdigheid welke het wetenschappelijk onderwijs en onderzoek aan de Landbouwhogeschool kenmerkt. De genetica heeft zich ontwikkeld tot een sterk vertakte boom, niet in het minst dank zij de vele essentiële voedingsstoffen welke door haar wortels in naburige tuinen aangetroffen werden, en waarvan deze boom in toenemende mate afhankelijk is voor een goede vruchtopbrengst. In enkele der buurtuinen zijn haar stekjes inmiddels tot zelfstandige bomen van uiteenlopende habitus opgekweekt, een goede reden voor de eigenaars om tijdens bezoek en tegenbezoek hun ervaringen uit te wisselen. Het kan zelfs voorkomen dat in een veraf gelegen tuin enig wortelopslag ontwaard wordt; de al of niet aangenaam verraste eigenaar aarzele dan niet een nadere verklaring te vragen.

Hooggeachte Prakken,

De ruime mate van vrijheid en daarmee het grote vertrouwen dat U Uw wetenschappelijke medewerkers steeds gegeven hebt bij het zich ontplooiën in de richting van eigen belangstelling, valt niet genoeg te waarderen. Het is verheugend te constateren dat daarbij onder Uw leiding een evenwichtige verdeling van onderwijs- en onderzoekstaken tot stand gekomen is. Ook dank ik U voor Uw vele vriendschappelijke adviezen en voor de collegiale wijze waarop U Uw staf zoveel mogelijk betreft bij de besluitvorming ten aanzien van al die zaken welke nodig zijn voor een goed functioneren van de afdeling.

Dames en Heren medewerkers van het Laboratorium voor Erfelijkheidsleer,

De sfeer van prettige verstandhouding en goodwill onder U allen, moge dan wel als vanzelfsprekend ervaren worden, toch is het goed

dit af en toe eens onder woorden te brengen. Gaarne draag ik er het mijne toe bij, deze goede sfeer te continueren.

Dames en Heren Studenten,

Er zijn vele discussies gaande rondom het begrip „studierendement”. De eerste vereiste tot verhoging hiervan is, mijns inziens, een meer dan plichtmatige belangstelling Uwerzijds voor de door U te bestuderen onderwerpen, maar dan hebt U er ook recht op dat degene die U hierbij leiding geeft zijn taak met meer dan plichtmatige toewijding en vreugde vervult. Grote waarde hecht ik aan een regelmatig persoonlijk contact, met name tijdens de Ingenieursstudie. In principe duurt mijn spreekuur voor U dan ook van maandagmorgen tot en met vrijdagmiddag.

Ik dank U voor Uw aandacht.