

Genetisch onderzoek bij de kip

Ruim twee jaar geleden besloot de vakgroep Fokkerij en Genetica van de Wageningen Universiteit dat het noodzakelijk was een nieuwe DNA-bank op te zetten van oud-Hollandse rassen. Dit artikel beschrijft hoe ver de vakgroep gevorderd is met dit project en wat de eerste praktische resultaten zijn.

Voor het doen van genetisch onderzoek is het erfelijk materiaal nodig van de dieren die onderzocht moeten worden. Een van de mogelijkheden om het erfelijk materiaal te verkrijgen is door bloed af te tappen van de dieren en hieruit het erfelijk materiaal (het DNA) te isoleren. Deze methode is zeer effectief, maar ook erg arbeidsintensief, mede doordat alle (hobby)fokkers thuis moeten worden opgezocht voor het tappen van het bloed van de dieren. In samenwerking met de Stichting Zeldzame Huisdierrassen (SZH) en de hoender-

clubs is dit experiment meer dan veertien jaar geleden uitgevoerd. Een probleem met het destijds verzamelde materiaal is dat het na een aantal keer gebruiken opraakt. Bovendien is door de tijd de kwaliteit van het bloed slechter geworden, waardoor het hieruit geïsoleerde DNA ook van slechtere kwaliteit is. Nieuw materiaal moest worden verzameld om verder genetisch onderzoek te kunnen uitvoeren. Dit hebben we gezamenlijk (SZH en hoederclubs) weer opgepakt, maar in plaats van het verzamelen van bloed zijn

we begonnen met het verzamelen van bevruchte eieren per ras. Geprobeerd is voor de verschillende rassen om per haan drie eieren in te leggen om ten minste één embryo per haan te kunnen bemonsteren. De eieren werden in de broedmachine gelegd tot dag zeventien, waarna het embryo uit het ei werd gehaald om de organen te verzamelen. Het aantal hanen hangt erg af van de effectieve populatiegrootte van het ras/de lijn. Vaak is het zo dat maximaal vijftien à twintig hanen genetisch het gehele ras vertegenwoordigen.

Naast alle groottevarianten van de oud-Hollandse rassen zijn van elk ras indien mogelijk ook de krielvormen verzameld. In het overzicht in tabel 1 is te zien welke rassen bemonsterd zijn en tevens van hoeveel dieren we materiaal hebben. Doordat we met embryo's hebben gewerkt, hebben we naast het verzamelen van weefsel voor DNA ook van vijf dieren per lijn een weefselkweek (fibroblastenkweek) opgezet. Het voordeel van het hebben van een celkweek is dat het een onuitputtelijke voorraad is om uit deze cellen DNA te isoleren.

Daarnaast biedt dit de mogelijkheid om in de toekomst ook nog de genen in deze samples te bestuderen. Zoals te zien is in tabel 1 zijn nog niet alle rassen volledig bemonsterd. Graag willen we proberen om de lijst komend jaar compleet te krijgen. Verder zijn door technische problemen van de broedmachine de uitkomsten van sommige rassen zoals van het Fries hoen, Fries hoen kriel, Noord-Hollandse blauwe en Noord-Hollandse blauwe kriel erg laag. Dit geeft een vertekend beeld van de uit-



komsten van deze rassen. Het doel was om van vijf dieren van elk ras of elke lijn een weefselkweek op te zetten. Helaas is dit nog niet van alle rassen of lijnen verwezenlijkt. Ook deze lijst willen we het komend jaar af hebben.

Genetische variatie

Mede omdat de dataset nog niet compleet is, is er maar beperkt onderzoek mogelijk. Van alle verkregen samples is DNA geïsoleerd. Het DNA is gebruikt om het variabele gedeelte van de D-loop van het mitochondriaal DNA in kaart te brengen. Het mitochondriaal DNA wordt alleen via de vrouwelijke zijde doorgegeven aan de nakomelingen. De variatie die gevonden wordt, kan per dier samengevoegd worden, wat resulteert in een bepaald haplo-type. Door dit voor meerdere dieren binnen een ras of lijn te doen, kunnen deze haplotypen gebruikt worden om de variatie inzichtelijk te maken.

Het blijkt dat er veel variatie is in de haplotypen, maar dat haplo-type 3 dominant aanwezig is. Tevens is te zien dat bij de lijnen waar zowel een grote variant als een krielvorm voorkomt, het aantal haplotypen bij de krielvorm toegenomen is. De toename van het aantal haplotypen kan verklaard worden doordat er specifieke dieren gebruikt zijn om de krielvorm te realiseren.

Fylogenetische boom

Doordat nog niet van alle dieren het materiaal aanwezig is, is de bouw van de fylogenetische boom op basis van het mitochondriaal DNA (gevonden haplotypen) uitgesteld. Een andere manier om diversiteit weer te geven in een fylogenetische boom is met behulp van de autosomale

ras-code	ras	hanen	weefsel verzameld van embryo's	DNA geïsoleerd van embryo's	weefselkweek van embryo's	bevruchting (%)
1A	Groninger meeuw	23	20	20	7	75,00%
1AK	Groninger meeuw Kriel	21	21	21	5	76,12%
1B	Lakenvelder	10	10	10	1	60,47%
1BK	Lakenvelder kriel	6	6	6	4	80,00%
1C	Drentse hoen	15	15	15	5	68,89%
1CK	Drentse hoen kriel	2	2	2	2	100,00%
1D	Assendelfter hoen	13	13	13	4	66,67%
1DK	Assendelfter hoen kriel	2	2	2	2	66,67%
1E	Friese hoen	17	17	17	4	45,68%
1EK	Friese hoen kriel	7	7	7	3	14,52%
1F	Hollands hoen	10	10	10	0	x
1FK	Hollands hoen kriel	4	4	4	2	x
2A	Baardkuifhoen	3	3	3	2	88,89%
2AK	Baardkuifhoen kriel	14	14	14	2	65,31%
2B	Ned. uilebaard	15	15	15	6	82,23%
2BK	Ned. uilebaard kriel	11	11	11	2	60,98%
2C	Hollandse kuifhoen	14	14	14	6	80,48%
2CK	Hollandse kuifhoen kriel	14	14	14	4	92,69%
2D	Kraaikop	30	30	30	4	91,92%
2DK	Kraaikop kriel	5	5	5	0	70,59%
2E	Brabanter	17	17	17	5	92,16%
2EK	Brabanter kriel	11	11	11	2	85,30%
2F	Hollandse kriel	31	31	31	5	85,15%
2G	Sabelpootkriel	20	20	20	5	74,73%
3A	Barnevelder	27	27	27	5	72,83%
3AK	Barnevelder kriel	7	7	7	0	63,64%
3B	Welsumer	15	15	15	2	83,34%
3BK	Welsumer kriel	8	8	8	1	71,43%
3C	Noord-Hollandse blauwe	5	5	5	5	31,52%
3CK	Noord-Hollandse blauwe kriel	1	1	1	1	50,00%
3D	Twentse hoen	13	13	13	3	56,53%
3DK	Twentse hoen Kriel	12	12	12	2	64,29%
3E	Chaams hoen	18	18	18	1	74,26%
3F	Schijndelaar	14	14	14	5	86,89%
3FK	3FK Schijndelaar kriel	1	1	1	0	100,00%
4AK	4AK Eikenburger kriel	4	4	4	1	60,00%

x = niet geschouwd

Tabel 1 – Overzicht van monsterverzameling oud-Hollandse hoenderrassen

merkers. Autosomale merkers zijn DNA-merkers die op de verschillende chromosomen liggen, waarbij de merkers op de sexchromosomen (chromosoom Z en W

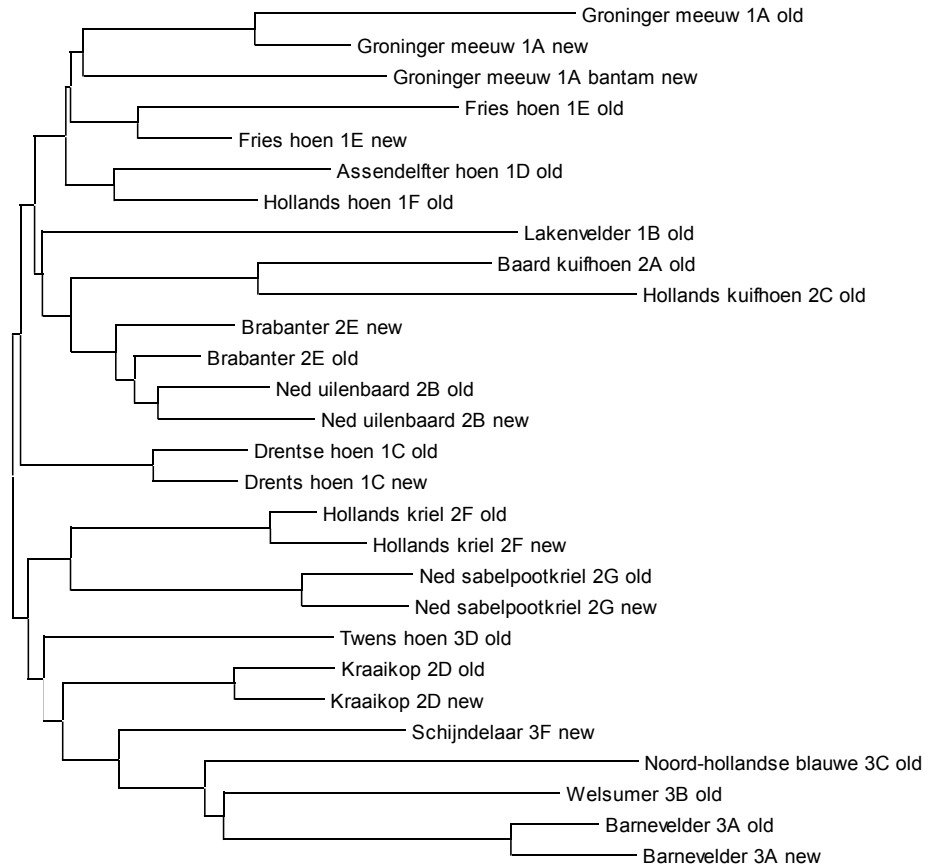
bij de kip in plaats van X en Y bij de mens) niet worden meegenomen. De keuze van de DNA-merkers is wel zo dat de afstand tussen de merkers ongeveer gelijk is. Hier-



Het Kraaikopras was onderdeel van het onderzoek

bij wordt de overerving van zowel de mannelijke als de vrouwelijke kant gevolgd. De helft van het genetisch materiaal krijg je via de moeder en de andere helft via de vader. Voor dit onderzoek kunnen we bijna 60.000 DNA-merkers gebruiken. Dit geeft een hoop informatie, maar de kosten zijn ook hoog. Per dier lopen de kosten op tot 150 euro. In de eerste fase hebben we de nieuwe DNA-monsters per lijn samengevoegd en deze hebben we getypeerd met 60.000 DNA-merkers, samen met de samples die we veertien jaar geleden verzameld hadden (ook samengevoegd per lijn).

De gegevens zijn verwerkt en zijn weergegeven in figuur 1 als een fylogenetische boom. In alle gevallen vallen de 'old' en 'new' samples samen, wat betekent dat de lijnen nog steeds hetzelfde zijn. Wel is in sommige gevallen de lengte van de tak kor-



Figuur 1 – Fylogenetische boom van oud-Hollandse rassen opgebouwd met behulp van 57.636 DNA-merkers

ter geworden. Dat kan duiden op minder inteelt of een betere sampling van het ras of een verbetering in de fokkerij, waardoor inteelt is verminderd. Uit verder onderzoek moet blijken wat de reden kan zijn.

Toekomstig onderzoek

Een van de onderzoeksvraagstukken die we willen oppakken, is welke genen verantwoordelijk zijn voor de krielvorm bij kippen. We hebben bij fokkerij en genetica

(ABG) al de genen opgespoord voor sex-gebonden dwerggroei en autosomaal gebonden dwerggroei. Doordat van elk ras voor zover mogelijk de grote als wel de krielvorm verzameld is, hopen we de gemeenschappelijke genen op te sporen die het effect van krielvorm kunnen verklaren. Om die reden willen we voor alle rassen de verzameling dieren compleet hebben. We moeten voor dit project nog wel nationaal of Europese financiering krijgen. ●