

**Stamboomanalyse en optimalisatie voor het
fokprogramma van het Markiesje en de Stabijhoun.
Gericht op verbetering van de gezondheid en het welzijn en op het
behoud van genetische diversiteit.**



Harmen Doekes

Reg. Nr. 920809186050

Major thesis fokkerij en genetica van dieren (ABG-80436)

Januari 2016

Supervisors/examiners:

Piter Bijma - Animal Breeding and Genomics Centre, Wageningen University
Kor Oldenbroek - Centre for Genetic Resources the Netherlands (CGN), Wageningen UR Jack Windig -
Animal Breeding & Genomics Centre, Wageningen UR Livestock Research

Thesis: Animal Breeding and Genomics Centre



Stamboomanalyse en optimalisatie voor het fokprogramma van het Markiesje en de Stabijhoun.

Gericht op verbetering van de gezondheid en het welzijn en op het behoud van genetische diversiteit.

Harmen Doekes
REG.NR.: 920809186050
Major thesis Animal Breeding and Genetics (ABG-80436)
Januari, 2016



Supervisors:

Kor Oldenbroek - Centre for Genetic Resources the Netherlands (CGN), Wageningen UR
Jack Windig - Animal Breeding & Genomics Centre, Wageningen UR Livestock Research

Examinatoren:

Piter Bijma - Animal Breeding and Genomics Centre, Wageningen University
Kor Oldenbroek - Centre for Genetic Resources the Netherlands (CGN), Wageningen UR

In opdracht van:

Nederlandse Markiesjes Vereniging
Nederlandse Vereniging voor Stabij- en Wetterhounen

Inleiding

Dit proefschrift wordt ingediend als gedeeltelijke vervulling van de eisen voor de graad van Master Dierwetenschappen van Wageningen Universiteit, Nederland. De thesis bestaat uit een niet-gepubliceerde studie over de genetische status van twee Nederlandse hondenrassen, het Markiesje en de Stabijhoun. Die werd gedaan in opdracht van de rasverenigingen van de rassen, de 'Nederlandse Markiesjes Vereniging' en de 'Nederlandse Vereniging voor Stabij- en Wetterhounen'. Dit stuk is geschreven voor lezers met een beperkte voorkennis. Hoewel het proefschrift zich richt op twee rassen, betreft het hier problemen die worden gevonden in vele hondenrassen.

De studie werd uitgevoerd in 2015 bij de leerstoel Animal Breeding & Genetics van de Wageningen Universiteit, onder supervisie van Kor Oldenbroek en Jack Windig. Ik wil mijn supervisors danken voor hun waardevolle feedback, hun technische ondersteuning en de communicatie met de rasverenigingen en andere belangrijke contacten. Ik spreek verder mijn dank uit aan de diverse mensen van de rasverenigingen die me van alle benodigde informatie voorzagen en mijn vragen adequaat beantwoordden.

Tijdens de uitvoering van dit onderzoeksproject heb ik mijn onderzoekstechnieken kunnen ontwikkelen. Een voorbeeld van zo'n techniek is het onafhankelijk beslissen. Hoewel mijn supervisors de richting van dit project stuurden, was ik grotendeels vrij om zelf te besluiten waar de focus moest komen (wat zowel een uitdaging als een leerzame ervaring was). Buiten het ontwikkelen van mijn onderzoekstechnieken heb ik mijn kennis van populatiegenetica kunnen vergroten en heb ik inzicht gekregen in de wereld van stamboomhonden.

Ik hoop oprecht dat de resultaten van deze studie de rasverenigingen kan helpen hun fokprogramma's te verbeteren en op die wijze genetische diversiteit te bevorderen en de gezondheid en het welzijn van de dieren van beide rassen te verbeteren.

Wageningen, januari 2016
Harmen Doekes

Inhoudsopgave

Samenvatting

1. Introductie
 - 1.1 Domesticatie van de hond en de ontwikkeling van rassen
 - 1.2 De opkomst van erfelijke aandoeningen
 - 1.3 Het hondengenoem, genetische diversiteit, inteelt en gemeenschappelijke voorouders
 - 1.4 Het voorkomen en inperken van erfelijke aandoeningen
 - 1.5 Nationale initiatieven om de gezondheid en het welzijn van rashonden te verbeteren
 - 1.6 Het Markiesje
 - 1.7 De Stabijhoun
 - 1.8 Doel en onderzoeksvragen
2. Materialen en onderzoeksvragen
 - 2.1 Stamboomanalyse
 - 2.2 Analyse van erfelijke aandoeningen
 - 2.3 Simulatie van fokmethododes
3. Resultaten Markiesje
 - 3.1 Stamboomanalyse
 - 3.2 Erfelijke aandoeningen
 - 3.3 Simulatie van fokmethododes
4. Resultaten Stabijhoun
 - 4.1 Stamboomanalyse
 - 4.2 Erfelijke aandoeningen
 - 4.3 Simulatie van fokmethododes
5. Discussie
6. Conclusie en aanbevelingen

Referenties

Appendices:

Appendix I. Markiesje:

Appendix II. Markiesjes: tabel neuropathologische aandoeningen, COI en founder bijdragen

Appendix III. Stabijhoun: Verdeling van algemene populatie parameters

Appendix IV. Rashondenmanagement: een simulatie

Samenvatting

De sterke artificiële selectiedruk en het fokken in (kleine) gesloten populaties heeft in veel hondenrassen geleid tot een hoog inteeltniveau, een lage genetische diversiteit en verschillende erfelijke aandoeningen. In deze studie zijn twee Nederlandse hondenrassen, het Markiesje (stamboek sinds de jaren zeventig) en de Stabij (stamboek sinds de jaren veertig), geanalyseerd met als doel tot aanbevelingen te komen die de rasverenigingen kunnen bijstaan in het behouden van de genetische diversiteit en het verbeteren van het dierenwelzijn in de rassen. Eerst is een stamboekanalyse uitgevoerd, waarbij algemene kerngetallen en parameters met betrekking tot genetische diversiteit zijn berekend. Daarna is de prevalentie van erfelijke aandoeningen in de rassen geschat. Als laatste is het effect van diverse fokstrategieën op de inteeltgraad in kaart gebracht met computersimulaties.

Het Markiesje is een klein ras met jaarlijks ongeveer 120 geboren pups. Meer dan een kwart (26,2%) van de reuen en meer dan een derde (36,7%) van de teven werd tot nu toe geselecteerd voor de fok. De gemiddelde worpgrootte was 4,2 pups en het generatie-interval 3,4 jaar. De Stabij is een groter ras met ongeveer 700 pups per jaar. Rond een dertiende (7,8%) van de reuen en een zesde (17,8%) van de teven werd tot nu toe geselecteerd voor de fok. De gemiddelde worpgrootte was 6,3 pups en het generatie-interval 4,4 jaar. Van de genetische diversiteit die aanwezig was in de 54 basisdieren in het Markiesje en de 30 basisdieren in de Stabij is respectievelijk 13% en 33% verloren gegaan. Gedurende het overgrote deel van de tijd dat de rassen bestaan is de inteeltgraad per generatie in beide rassen ver boven de 1% geweest (effectieve populatiegrootte < 50), een waarde die als ondergrens wordt gebruikt om aan te geven dat een ras een onaanvaardbaar hoog risico loopt op de accumulatie van erfelijke aandoeningen. De inteeltgraad en verwantschapstoename nemen echter wel af in de rassen. Het effectieve aantal basisdieren en het genoom equivalent waren respectievelijk 14,6 en 4,1 voor het Markiesje en 6,3 en 1,5 voor de Stabij, wat aangeeft dat een groot deel van de genetische diversiteit verloren is gegaan door een onevenredige bijdrage van de basisdieren en door genetische flessenhalzen. In het Markiesje zijn twee basisdieren gevonden die samen verantwoordelijk zijn voor 31% van de genenpoel, 46% van de gemiddelde inteeltcoëfficiënt en 44% van de gemiddelde verwantschap van de Markiesjes geboren in 2010-2015. In de Stabij zijn vijf basisdieren gevonden die samen verantwoordelijk zijn voor 86% van de genenpoel, 95% van de gemiddelde inteeltcoëfficiënt en 95% van de gemiddelde verwantschap van de Stabijs uit 2010-2015. Drie erfelijke aandoeningen zijn geanalyseerd in het Markiesje: patella luxatie (PL; geschatte prevalentie van 21,7%), progressieve staafjes-kegeltjes degeneratie (PRCD; 1,4%) en een neuropathologie (0,8%). PL is polygeen en PRCD is monogeen autosomaal recessief. De oorzaak van de neuropathologie is onbekend maar het wordt verondersteld dat deze aandoening ook monogeen autosomaal recessief is. In de Stabij zijn zes erfelijke aandoeningen geanalyseerd: heupdysplasie (HD; 20,8%), elleboogdysplasie (ED; 18,8%), epilepsie (0,9%), persisterende ductus arteriosus (PDA; 0,8%), cerebrale dysfunctie (CD; 0,6%) en de von Willebrand ziekte type-I (vWD-I; 69,8%). HD, ED, epilepsie en PDA zijn polygeen en CD en vWD-I zijn monogeen autosomaal recessief. Met behulp van computersimulaties is laten zien dat de huidige fokrestricties van de rasverenigingen effectief zijn in het beperken van de inteeltgraad, met name in de Stabij (waarbinnen geregeld populaire reuen overmatig zijn gebruikt). Het vergroten van de fokpopulatie was in absolute aantallen vooral effectief in de kleinere populatie van Markiesjes. Sturen op verwantschap was zeer effectief in het beperken van de inteeltgraad in beide rassen.

Concluderend is de huidige populatiestatus van en de genetische diversiteit in beide rassen verre van optimaal. Aan de rasvereniging van de Stabij wordt aangeraden om ofwel consequent op verwantschap te sturen ofwel systematisch uit te kruisen met andere rassen. Dit om de (toename) in de verwantschap te verminderen. Aan de rasvereniging van het Markiesje wordt aangeraden om door te gaan met het inkruisen van look-alikes en de populatie zo te laten groeien, zonder dat hierbij de verwantschap sterk toeneemt. Overige aanbevelingen zijn te vinden in de conclusie van dit rapport.

1. Introductie

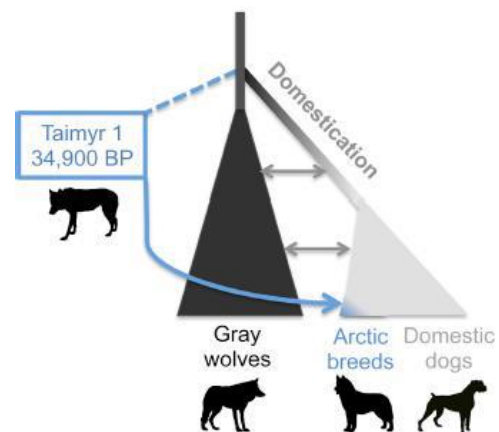
Het Markiesje en de Stabijhoun zijn twee van de negen bestaande originele Nederlandse rassen. Hoewel beide rassen af zouden stammen van de spioen – een klein spanielachtig type jachthond dat al in de Middeleeuwen in Europa voorkwam – werden ze niet zuiver gefokt tot in de 20^e eeuw. Sinds de oprichting van de rasvereniging voor de stabij (Nederlandse Vereniging voor Stabij- en Wetterhounen) in 1947 en de rasvereniging voor de Markiesjes (Nederlandse Markiesjes Vereniging) in 1979 hebben beide zeldzame rassen een (semi-) gesloten populatie ontwikkeld en geschat werden 2.500 Markiesjes en 16.700 Stabijhounen geregistreerd in het Nederlandse Hondenstamboek.

Tijdens de laatste decennia is de belangstelling voor rashonden en de kennis en bewustwording van hun genetische problemen enorm toegenomen. Dit heeft geleid tot diverse fok-initiatieven op zowel internationaal niveau als bij rasverenigingen. Als gevolg van de interesse voor de genetische gezondheid van hun rassen werd bij zowel Stabijhoun als Markiesje besloten tot een allesomvattende stamboomanalyse en evaluatie van de fokstrategie. De resultaten van deze analyses zijn in dit rapport te vinden.

In de introductie wordt een uitgebreide theoretische achtergrond weergegeven. In de eerste paragrafen wordt achtergrondinformatie gegeven over het historische proces van de domesticatie van honden, de ontwikkeling van rassen en het ontstaan en voorkomen van genetische afwijkingen. Hierna worden het Markiesje en de Stabijhoun geïntroduceerd. Het hoofdstuk besluit met het doel en de onderzoeksvragen van de studie.

2.2 Domesticatie van honden en het ontstaan van rassen

De grijze wolf (*Canis lupus*) is het nauwst verwant aan de gedomesticeerde hond (*Canis familiaris*), met minder dan 0,2% verschil in het DNA en de mogelijkheid om onderling voort te planten (Wayne, 1993). Hoewel algemeen wordt aangenomen dat honden van de wolf afstammen is de wijze waarop dit gebeurd zou zijn nog een onderwerp van grote discussie. Genomische en archeologische studies schatten de tijd van afscheiding van de wolvenpopulatie tussen 9.000 en zelfs 33.000 jaar en noemen China, Israël en Kroatië als waarschijnlijke domesticatiegebieden (Polinger et al., 2010; Thalmann et al., 2013). Recente onderzoeken die wolvengenoom in kaart brengen bevestigen de genoemde afstammingen als zijnde de hoofdafstamming echter niet (Freedman et al., 2014). Sterker, dit onderzoek suggereert dat de afwijkende genetische patronen in de huidige grijze wolf zijn ontstaan na domesticatie van de tegenwoordige hond, of dat de voorouders van de hond inmiddels zijn uitgestorven. Deze laatste theorie wordt gesteund door Skoglund et al., die onderzoek deed naar het genoom van een 35.000 jaar oude Taimyrwolf en ontdekte dat dit individu afweek van de moderne wolf en dat deze afwijkingen ontstaan zijn in de tijd dat de wolf en de diverse wolventypes opsplitsten (Skoglund et al., 2015). Skoglund et al stelt ook dat de moderne hond afstamt van meerdere wolvenpopulaties en op diverse tijdstippen. Deze gedachte is gebaseerd op bewijs van introgressie van Taimyr wolven met moderne Noordse rassen, zoals aangegeven in figuur 1. Het waarschijnlijke uitsterven van de wilde voorouders van de hond, de inmenging van de wolf in diverse hondenlijnen en het voorkomen van diverse bottlenecks in beide lijnen maken het uiterst moeilijk om wat het exacte tijdstip van domesticatie is geweest (Freedman et al., 2014).



Wat de exacte tijd en plaats van de domesticatie ook was, er is geen andere diersoort die in zo'n nauwe samenwerking en over zoveel millennia met mensen heeft samengeleefd als de hond (Parker et al., 2004). Gedurende deze tijd hebben honden tal van rollen in de samenleving overgenomen en vervuld, variërend van de jacht en het hoeden van schapen tot het verstrekken van gezelschap. Tegelijkertijd heeft de hond het meest diverse zoogdier geworden met enorme variatie in bijvoorbeeld grootte, kleur van de vacht en vachtlengte (Boyko et al., 2010). Vooral sinds de 19e eeuw zijn er vele rassen ontwikkeld, dwz uniforme en strikt gedefinieerde groepen met gemeenschappelijke voorouders en

specifieke fysieke en gedragskenmerken, door middel van kunstmatige selectie. Tegelijkertijd werden er rasverenigingen opgericht en rasstandaarden geschreven waarin de ideale vertegenwoordiger van een ras wordt beschreven (Parker, 2012). Hoewel de meeste rashonden tegenwoordig gehouden worden als gezelschapsdieren bevatten veel rasstandaarden nog steeds elementen van het oorspronkelijke gebruiksdoel. Een voorbeeld is de kooikerhond, die oorspronkelijk werd gebruikt voor het lokken en drijven van eenden in speciale kooien en waarvoor de woorden energiek, uithoudingsvermogen, levendig en zelfbewust nog steeds trefwoorden zijn in de gedragsbeschrijving van de rasstandaard (VHNK, 2015).

Aan het begin van de 20e eeuw, werden de nationale hond organisaties zoals de Britse Kennel Club, de American Kennel Club en de Nederlandse Kennel Club ("Raad van Beheer op Kynologisch Gebied Nederland") gevormd. Deze organisaties zijn verantwoordelijk voor het nationale beleid fokkerij en registratie van rashonden. In 1911 werd een internationale federatie van kennel clubs, de 'Fédération Cynologique Internationale (FCI), opgericht. De FCI erkent 343 verschillende rassen en omvat momenteel 91 secties, die zijn ingedeeld in 10 groepen op basis van gelijkenissen in uiterlijk, oorspronkelijk gebruiksdoel en hun rol in de samenleving (Oldenbroek & Windig, 2012; FCI, 2015). Als ook niet-erkende rassen worden meegeteld kunnen er meer dan 1.000 rassen worden onderscheiden (Morris, 2002).

1.2 . De opkomst van erfelijke aandoeningen

Tijdens het proces van kunstmatige selectie dat de mogelijkheid creëert voor een eigenaar om zijn of haar ideale hond te kiezen zijn er twee belangrijke (genetische) gezondheidsproblemen ontstaan. Deze problemen manifesteren zich in de vorm van erfelijke aandoeningen en krijgen steeds meer aandacht in de (Nederlandse) media en de maatschappij, met name door documentaires van de BBC, Zembla en Radar (BBC One, 2008; Zembla, 2010; Radar, 2011). Het maatschappelijk belang van het onderwerp blijkt verder uit het grote aantal honden en hondenbezitters. In Nederland zijn er 1,5 miljoen honden, waarvan een derde raszuiver is, en één van de vijf huishoudens bezit één of meer honden (Raad van Beheer, 2014). Ongeveer 40% van de Nederlandse rashonden wordt verondersteld te lijden aan een genetische aandoening die zich uit in de eerste helft van hun leven (Gubbels, 2012). De Nederlandse opinie ten aanzien van rashonden is ambivalent; de meningen verschillen en wisselen ook van tijd tot tijd. Ongeveer 95% van de Nederlandse eigenaren van de dieren met een risico op welzijnsproblemen zou hetzelfde ras weer opnieuw aanschaffen en 75% zou het ras aanbevelen aan anderen (Pompe et al., 2013). Hoewel de publieke wens het welzijn van dieren op nummer een zet, vraagt datzelfde publiek naar honden met een herkenbaar en voorspelbaar uiterlijk en gedrag (Raad van Beheer, 2014).

De twee types van erfelijke aandoeningen die worden onderscheiden kunnen zijn aandoeningen met betrekking tot de rasstandaard (bouw (conformatie) gerelateerd) en aandoeningen niet direct gerelateerd aan de rasstandaard (niet-conformatie gerelateerde). In 2009-2010 werden in de top 50 UK Kennel Club geregistreerde rassen in totaal 84 niet-conformatie gerelateerde erfelijke aandoeningen geregistreerd en 312 niet-conformatie gerelateerd (Asher et al, 2009; Summers et al, 2010). Op dit moment, in 2016, is een totaal van 661 erfelijke aandoeningen - zowel conformatie gerelateerd als ongerelateerd - beschreven in de sectie honden van de Online Mendeliaanse Erfelijkheid in Dieren database. Van deze aandoeningen wordt gerapporteerd dat ongeveer 40% het Mendeliaans overervingspatroon volgt (OMIA, 2016).

Type 1: conformatie verwante erfelijke aandoeningen

Conformatie gerelateerde erfelijke aandoeningen zijn het resultaat van een extreme selectie op uiterlijke kenmerken. Die gerelateerde kenmerken noemen we schadelijke raskenmerken. Raskenmerken worden beschouwd als schadelijk wanneer individuen van het ras naar een dierenarts, gedragstherapeut of andere specialist worden gebracht om het kenmerk en/of daarmee samenhangende problemen te laten behandelen (Raad van Beheer, 2014). Een voorbeeld van een schadelijk raskenmerk is een zeer verkorte schedel, wat bij een groot aantal kortschedelige rassen

leidt tot kortschedelig luchtweg obstructie syndroom (Fasanellae et al., 2010). Een ander - minder voor de hand liggend - voorbeeld is heupdysplasie (HD), dwz de misvorming van het heupgewricht. Deze aandoening komt vooral voor in de grote en reuzenrassen honden en de prevalentie van HD heeft direct verband met het gemiddelde gewicht en de body-mass index (BMI) van de rassen (Comhair & Snaps, 2008; Witsberger et al., 2008). Een hoog gewicht of hoge BMI kan dus worden beschouwd als een schadelijk kenmerk voor HD.

Type II: niet-erfelijke aandoeningen verbonden conformatie

De uiting van niet-conformatie gerelateerde aandoeningen is het resultaat van de vermijdbare en onvermijdelijke inteelt en het hiermee verbonden verlies van genetische diversiteit (zie paragraaf 1.3). Elk dier draagt verschillende schadelijke recessieve allelen die geheel of gedeeltelijk worden gemaskeerd door de aanwezige dominante allelen. Aangezien inteelt de kans op het homozygoot worden van een allel vergroot (tabel 1), waaronder het schadelijke allel, leidt dit tot een hoger percentage van getroffen individuen in de populatie (Charlesworth & Charlesworth, 2010). Voorbeelden van niet-conformatie verwante erfelijke ziekten zijn progressieve retinale atrofie (PRA) en de ziekte van von Willebrand (vwd) (Summers et al., 2010).

Table 1. Change in Hardy-Weinberg genotype frequencies due to inbreeding (Charlesworth & Charlesworth, 2010)

Genotype	Frequency*	
	Outbred population	Inbred population
Homozygous normal (AA)	p^2	$p^2 + Fpq$
Heterozygous (Aa)	$2pq$	$2pq(1-F)$
Homozygous mutant allele (aa)	q^2	$q^2 + Fpq$

* p is the normal (dominant) allele frequency, q the mutant (recessive) allele frequency and F the average inbreeding coefficient (see paragraph 1.3).

1.3 Het genoom van de hond, genetische diversiteit, inteelt en verwantschap.

Met ongeveer 2,4 miljard basisparen en 20.000 genen is de grootte van het hondengenoom vergelijkbaar met dat van mensen en andere zoogdieren. Het aantal chromosomen, 38 paren autosomale chromosomen en één paar geslachtschromosomen, is hoger dan bij de mens (Ensembl, 2015).

Genetische diversiteit wil zeggen: de variatie in het genoom van elk individu in een populatie. Een algemeen gebruikte maatstaf voor het vaststellen van genetische variatie is de genetische diversiteit (GD), waarbij het aantal allelen die aanwezig zijn op een plaats en de gelijkmatigheid waarmee deze allelen voorkomen in de populatie wordt weerspiegelt. Het kan worden berekend voor een enkele locus als (Lacy, 1995):

$$GD = 1 - \sum(p_i^2)$$

waarin p_i de frequentie van allel i is en de sommatie wordt over alle allelen in de populatie. Om een genoom-brede meting van GD te krijgen kan een gemiddelde over alle loci worden genomen. In grote populaties met een lage verwantschap nadert de GD 1.

Een andere benadering is te kijken naar de verandering van de DNA-sequentie niveau met de nucleotide-diversiteit. De diversiteit van een bevolking is de gemiddelde kans dat twee willekeurig gekozen nucleotiden op een locatie verschillen in status (Charlesworth & Charlesworth, 2010). Parker et al. toonde aan dat de totale menselijke en hondenpopulatie een gelijke nucleotidediversiteit delen van 8×10^{-4} . Zij schatten bovendien dat meer dan 27% van de totale genetische variatie kan worden verklaard door verschillen tussen rassen bij honden, tegen 5-10% bij menselijke populaties (Parker et al., 2004). Dit geeft een indicatie van het aanzienlijke verlies van genetische diversiteit binnen hondenrassen.

Er zijn vier evolutionaire krachten die welbekend zijn genetische diversiteit beïnvloeden:

1. *Mutatie*. Mutaties in geslachtscellen verhogen genetische diversiteit. Hoewel de mutatiesnelheid bij honden sneller is dan bij de mens, met gerapporteerde mutatie frequenties voor microsatellieten variërend van $1,1 \times 10^{-2}$ tot $3,9 \times 10^{-3}$ per locus per generatie (Parra et al., 2010), is deze evolutionaire kracht relatief zwak. Schadelijke mutaties verdwijnen over het algemeen via de weg van de negatieve selectie en de manier van nieuwe positieve of neutrale mutaties gaan vaak verloren voordat ze de kans krijgen toe te nemen in aantal (Charlesworth & Charlesworth, 2010).
2. *Migratie*. Transgenese, d.w.z. de overdracht van de allelen door migratie, kan ofwel de genetische diversiteit verhogen via immigratie of deze juist door emigratie verlagen. Migratie tussen verschillende hondenrassen wordt aangeduid als uitkruising of outcross. Voor migratie binnen een bestaande populatie dienen er subpopulaties te zijn, bijvoorbeeld middels geografisch gescheiden subpopulaties of middels opzettelijk gefokte sublijnen. Subpopulaties hebben meestal hun eigen allel frequenties en het niveau en de richting van de migratie tussen de subpopulaties kan de genetische diversiteit in de metapopulatie sterk beïnvloeden (Charlesworth & Charlesworth, 2010; Oldenbroek & Windig, 2012).
3. *Selectie*. De voorkeursbijdrage van de genotypes van de ouders aan de nakomelingen, als een direct gevolg van de selectie, veroorzaakt een verlies van genetische diversiteit. Selectie is in hondenrassen vooral kunstmatig en niet natuurlijk. De eerste grote stap vindt plaats bij de oprichting van een ras, wanneer de founders worden geselecteerd. Het aantal gebruikte founders is vaak klein, wat een lage initiële genetische diversiteit veroorzaakt. Dit verschijnsel wordt aangeduid als founderseffect. Diversiteit wordt verder verloren door selectief fokken tijdens de ontwikkeling van het ras; alleen die mensen die goed voldoen aan de rasstandaard worden gebruikt voor de fokkerij. Selectief fokken betekent niet alleen het verbeteren van de frequentie van wenselijke allelen, maar ook de frequentie van ongewenste eigenschappen, zoals erfelijke aandoeningen verminderen. Een vaak gezien fenomeen in selectief fokken is het "popular sire effect", waarbij een paar populaire reuen overdreven worden gebruikt voor de fokkerij (Leroy, 2011; Oldenbroek & Windig, 2012). Een ander aspect dat de genetische diversiteit door selectie beïnvloedt, maar wordt minder vaak genoemd, is de (on)bereidheid van eigenaren om te fokken met hun hond.
4. *Willekeurige drift*. Willekeurige drift refereert aan de afname van genetische diversiteit als gevolg van wat Mendeliaanse sampling wordt genoemd (Charlesworth & Charlesworth, 2010). Aangezien veel hondenrassen een kleine populatiegrootte hebben en soms de gevolgen ervaren van genetische bottlenecks zijn ze sterk onderhevig aan drift (Oldenbroek & Windig, 2012).

Inteelt, waarmee bedoeld wordt de paring tussen familieleden, is sterk gerelateerd aan de genetische diversiteit. Zoals weergegeven in tabel 1, veroorzaakt inteelt een verandering in genotype frequenties in een populatie, maar heeft het geen invloed op de allelfrequenties van de populatie. In combinatie met selectie en drift kunnen allelfrequenties echter veranderen en zo leiden tot verlies van allelen (Charlesworth & Charlesworth, 2010).

Een zekere mate van inteelt is onvermijdelijk in kleine gesloten populaties zoals die van rashonden. Deze onvermijdelijke inteelt, alsmede opzettelijk inteelt die wordt gebruikt om dieren te fokken die voldoen aan de rasstandaard, veroorzaakt de manifestatie van erfelijke aandoeningen. Terwijl vele reproductie- en gezondheidsgerelateerde eigenschappen optimaal zijn in dieren die heterozygoot zijn voor de genen die verantwoordelijk zijn voor deze eigenschappen, leidt inteelt ook tot een verminderde overlevingsgeschiktheid: een fenomeen dat bekend staat als inteeltdepressie (Charlesworth & Charlesworth, 2010; Oldenbroek & Windig, 2012).

Inteelt wordt gekwantificeerd met het inteeltcoëfficiënt (F_i), dat de kans weergeeft dat beide allelen aanwezig zijn op een willekeurige plaats in het individu i afgeleid van dezelfde voorouderlijke allel, wat wil zeggen dat ze identiek zijn door afkomst (IBD). Inteelt is het directe gevolg van de verwantschap tussen de ouders, die wordt gekwantificeerd met de coëfficiënt van gemeenschappelijke voorouders

(f_{ij}), ook bekend als de coëfficiënt van verwantschap. Deze coëfficiënt wordt gedefinieerd als de waarschijnlijkheid dat een willekeurig gekozen allel uit een autosomale locus van individu i en een willekeurig gekozen allel uit dezelfde autosomale locus van individu j IBD zijn. De f_{ij} is gelijk aan de F van hypothetische nakomelingen van individuen i en j . In een populatie onder constante selectie en met willekeurige paring is de gemiddelde inteelt van één generatie dus gelijk aan het gemiddelde voorouderverwantschap van de vorige generatie ($F_t = f_{t-1}$). De verandering in beide parameters is ook gelijk in deze situatie ($\Delta F = \Delta f$). Een sneller stijgen dan in de F f zou mogelijk gelaagdheid in de subpopulatie geven; binnen de subpopulaties zouden f en F collectief stijgen maar over het geheel van de populatie zou f constant blijven. Een snellere toename binnen f dan binnen F kan optreden wanneer de minst verwante individuen zouden worden gepaard of wanneer bijvoorbeeld één reu wordt gebruikt voor de gehele nieuwe generatie (Caballero & Toro, 2000; Oldenbroek & Windig, 2012). Het behoud van de genetische diversiteit, gecombineerd met de beperking van inteelt, is een belangrijk aspect in het beheer van populaties die gedomesticeerd of in gevangenschap gehouden worden, omdat het gerelateerd is aan de aanpassingsmogelijkheden van een populatie en doordat het inteeltdepressie en de uiting van erfelijke problemen zoveel mogelijk wil beperken. (Ivy & Lacy, 2012; Oldenbroek & van der Waaij, 2015).

1.4. Preventie en beperking van erfelijke aandoeningen gerelateerde stoornissen

Ten aanzien van de preventie en beperking van aan bouw gerelateerde afwijkingen moet de nadruk op een verantwoord fokdoel liggen. Zo'n fokdoel moet de gezondheid en de levensverwachting hebben als leidende criteria, gevolgd door gedrags- en uiterlijke criteria van het ras. Het moet niet gericht zijn op een enkele of een paar eigenschappen, maar moet naar het totale individu kijken (Oldenbroek & Windig, 2012). Naast een verantwoord fokdoel, bewaking en sturing van de genetische diversiteit is het essentieel de uiting van niet-conformatie gerelateerde stoornissen te beperken (Lewis et al, 2010; Leroy & Rognon, 2012; Oldenbroek en Windig, 2012).

Monitoring van genetische diversiteit

Genetische diversiteit kan worden bewaakt op basis van genealogische gegevens. De cijfers die algemeen gebruikt worden zijn die van het aantal pups per generatie, het aantal reuen en teven per generatie, de verdeling van de pups ten aanzien van de ouders/voorouders en de Δf en ΔF . Een algemeen gebruikte maat is de effectieve populatiegrootte (N_e), gedefinieerd als het aantal individuen dat reproduceert in een geïdealiseerde populatie die tot dezelfde genetische diversiteit leidt als de populatie die onderzocht wordt. De geïdealiseerde bevolking heeft diverse aannames. Ten eerste is er een gelijk aantal reuen en teven. Ten tweede hebben alle dieren een gelijke waarschijnlijkheid nakomelingen te produceren en het aantal nakomelingen per individu varieert slechts door toeval. Ten derde, de partnerkeuze is willekeurig, dus er is geen selectie. Tot slot is de grootte van de fokpopulatie constant (Charlesworth & Charlesworth, 2010). De effectieve populatiegrootte is gebaseerd op de toename van homozygotie door de tijd heen, volgens de formule (Falconer et al., 1996):

$$N_e^{IBD} = \frac{1}{2\Delta IBD}$$

waar de ΔIBD traditioneel de gemiddelde inteeltgraad ΔF is, maar ook de gemiddelde graad van voorouderverwantschap Δf zijn of het individuele inteelt- of voorouderverwantschapsgetal. Andere schattingen van N_e zijn bijvoorbeeld gebaseerd op de geslachtsverhouding of de variatie in de worpgrootte (Gutiérrez et al, 2008; Leroy et al, 2013). De klassieke formule voor de schatting van N_e , waarbij de geslachtsverhouding wordt gebruikt is (Falconer et al., 1996):

$$N_e^S = \frac{4N_m N_f}{N_m + N_f}$$

waar N_m en N_f respectievelijk de aantallen van reproducerende reuen en teven zijn.

Een andere benadering voor het meten (van het verlies) van de genetische diversiteit in een populatie is door te kijken naar de waarschijnlijkheid van genenoorsprong. Het gaat om de berekening van de founder equivalenten en de berekening van de genetische bijdrage van de voorouders/founders aan de huidige genenpool, het gemiddelde inteeltcoëfficiënt en de gemiddelde voorouderverwantschap (Lacy, 1989; Caballero & Toro, 2000).

Het sturen van genetische diversiteit; de zin van fokprogramma's

Het sturen van genetische diversiteit bij populaties in gevangenschap/gedomesticeerde populaties wordt vaak uitgevoerd op basis van de Δf , ΔF en de bijbehorende effectieve populatiegrootte (Ivy & Lacy, 2012). Effectieve populatiegroottedrempels van 50 en 500 zijn voorgesteld met betrekking tot het risico op uitsterven van een populatie op respectievelijk de korte en lange termijn (Leroy et al., 2013). Volgens het risico classificatiesysteem van de Voedsel- en Landbouworganisatie (FAO), is een diersoort/ras kritisch bedreigd als het totale aantal vrouwelijke fokdieren minder is dan 100 of het totale aantal mannelijke fokdieren gelijk is aan of lager is dan 5, wat overeenkomt met een NeS van ongeveer 20. Een dergelijk ras wordt gecategoriseerd als bedreigd als het totale aantal vrouwelijke fokdieren lager is dan 1000, of wanneer het totale aantal mannelijke fokdieren onder of gelijk is aan 20, wat overeenkomt met een NeS van ongeveer 80 (FAO, 2007).

In tabel 2 worden risicocategorieën onderscheiden voor het optreden van erfelijke aandoeningen bij hondenrassen, die gebaseerd zijn op de populatie-inteelt en de bijbehorende populatiegrootte (Oldenbroek & Windig, 2012). Zo wordt een NeF van 100 (ΔF van <0,5%) hier beschouwd als het minimum om een hoge frequentie van erfelijke aandoeningen op de lange termijn te voorkomen.

Table 2. Risks of different inbreeding rates (directly translated from (Oldenbroek & Windig, 2012))

Inbreeding rate (ΔF)	Risk on problems	Minimum no. of stud dogs*	Long-term expectancy
> 1%	Unacceptably high	< 25	Extinction of breed because of accumulation inherited disorders
0.5-1%	High	25-50	High frequency of inherited disorders
0.25-0.5%	Moderate	50-100	Inherited disorders do occur
< 0.25%	Small	> 100	Inherited disorders occur only occasionally

* Assuming that the number of breeding females is at least equal to the number of stud dogs and that the number of progeny that is selected for breeding is approximately equal for every stud dog.

Er zijn verschillende fokstrategieën beschreven om de groei van inteelt en het verlies van genetische diversiteit binnen een ras te beperken. Deze strategieën, die variëren in effect, kunnen grofweg worden onderverdeeld in de volgende categorieën:

1. *Uitbreiding van de effectieve populatiegrootte.* Dit kan worden gerealiseerd door het gebruik van een groter deel van de populatie voor de fokkerij, het gebruik van een meer gelijke geslachtsverhouding, het importeren uit het buitenland van dieren van hetzelfde ras door uitkruising (Oldenbroek & Windig, 2012). Men moet proberen om bottlenecks te voorkomen omdat ze een ernstig verlies van genetische diversiteit kunnen veroorzaken (Charlesworth & Charlesworth, 2010; Leroy & Baumung, 2011). De variatie in het aantal nakomelingen van ouders, dat ook de Ne vermindert, kan voor een groot deel worden beheerd met fokprogramma's.
2. *Instellen van beperkingen op de fokdieren.* Dit betreft het beperken van het aantal nesten van fokdieren en het beperken van het aantal fokdieren van een ouder dat mag worden ingezet voor de fokkerij (Leroy & Baumung, 2011; Windig et al, 2014.). Beide methoden voorkomen overmatig gebruik van populaire dieren voor de fokkerij, maar de laatste methode is strenger aangezien deze rekening houdt met de variatie in het aantal nakomelingen per worp.

3. *Toepassing fokprogramma's*. De optimale bijdrage methode, het eerst beschreven door Meuwissen (Meuwissen, 1997), maximaliseert de genetische diversiteit in gesloten populaties. Het is gebaseerd op geschatte fokwaarden (EBV) van dieren, gecorrigeerd door de gemiddelde verwantschap. Een tweede en meer gebruikelijke methode is de minimale verwantschapsparing, waarin elke teef is gekoppeld aan de minst gerelateerde reu. Lijnteelt, dat ook kan worden beschouwd als een fokprogramma, is een soort opzettelijke inteelt waarin familieleden (vaak nichten/neven) worden gecombineerd om bepaalde eigenschappen vast te leggen. Wanneer voldoende lijnen worden gebruikt kan de genetische diversiteit van de populatie hiermee worden gehandhaafd (Oldenbroek & Windig, 2012). Als laatste noemen we hier een fokprogramma dat de verwantschap in de populatie minimaliseert door het uitsluiten van dieren uit het fokprogramma die een hoger dan gemiddelde verwantschap met de rest van het ras hebben (Windig et al., 2014).

Het selecteren en toepassen van het beste fokprogramma wordt beperkt door verscheidene factoren. Ten eerste zijn er vele onafhankelijke beslissers, dat wil zeggen, individuele fokkers die betrokken zijn bij het fokken van honden. Dit maakt een volledig gecontroleerd fokprogramma zoals de optimale bijdrage methode onuitvoerbaar. Uitbreiding van de effectieve populatiegrootte kan ook worden beperkt door de aanwezigheid van vele onafhankelijke eigenaars (die misschien niet willen fokken met hun hond) en kan in theorie ook worden beperkt door weinig vraag naar honden van het ras. Tenslotte kunnen de populatieparameters die worden gebruikt om de juiste methode te bepalen fluctueren tussen zowel verschillende rassen als binnen een ras zelf (Lewis et al., 2014). Daarom moet de meest geschikte strategie worden gekozen op basis van de situatie in een bepaald ras (Windig et al., 2014).

Naast de genoemde strategieën kunnen gezondheids-fokprogramma's worden toegepast om rechtstreeks tegen erfelijke aandoeningen te selecteren. Collins et al. introduceerde de Breed-Disorder Welfare Impact Scores (BDWIS), die is gebaseerd op de prevalentie en ernst van een aandoening en het gemiddelde percentage van zijn leven dat een getroffen dier aan de aandoening lijdt (Collins et al., 2011). De BDWIS kan binnen een ras worden gebruikt om de prioriteiten vast te leggen voor een vast te stellen fokdoel.

Registratie

Uitgebreide registratie van de afstamming van dieren is van essentieel belang voor de bewaking en besturing van de genetische diversiteit. De totale populatie van Nederlandse rashonden is geregistreerd in het nationale stamboek rashond genaamd het 'Nederlands Honden Stamboek' (NHSB), dat wordt beheerd door de Nederlandse Kennel Club en internationaal wordt erkend. Binnen het NHSB worden drie typen stamboekcertificaten onderscheiden: die in de belangrijkste Stamboek, die in de voorlopige en die in de bijlagen van het Stamboek. Het voorlopige Stamboek is bestemd voor de fokkerij van (Nederlandse) rassen die nog niet erkend zijn door de FCI (Raad van Beheer, 2015). Van elke geregistreerde dier bevat het NHSB het NHSB-nummer, naam, geboortedatum, registratienummers van de ouders, kleur, chip/tatoeagenummer en - indien aanwezig - informatie over de fokker en eigenaar. Naast het NHSB hebben rasverenigingen vaak eigen databases, waarin ze additionele data van bijvoorbeeld gezondheidsonderzoeken of clubwedstrijden bijhouden.

1.5. Nationale initiatieven ter verbetering van de gezondheid en het welzijn van rashonden

De afgelopen jaren zijn verschillende nationale projecten gestart/uitgevoerd met als doel het verbeteren van de gezondheid en het welzijn van Nederlandse rashonden.

In 2011-2013 werd het project *Inteelt en Verwantschap in rashonden*, gefinancierd door de Nederlandse Kennel Club en het ministerie van Economische Zaken, uitgevoerd. Als onderdeel van dit project ontwikkelde de Wageningen Universiteit software die kan worden gebruikt om toezicht te houden en inteelt en verwantschap te voorspellen in de rassen. Deze software wordt nu gebruikt door de Nederlandse Kennel Club en zal beschikbaar worden gesteld aan rasverenigingen om hun

fokprogramma's te monitoren en rassen te verbeteren. De software wordt ook gebruikt in dit huidige onderzoek. In aanvulling op de ontwikkelde software werd er een boek over het fokken van rashonden met betrekking tot inteelt en verwantschap gepubliceerd in 2012 (Oldenbroek & Windig, 2012).

In 2013 werd er een project gestart in opdracht van het ministerie van Economische Zaken, met als doel om de incidentie van erfelijke aandoeningen, zowel conformatie gerelateerd als niet-conformatie gerelateerd, in de honden- en kattenpopulaties in Nederland te bepalen. Een voorstudie met enkele populaire rassen vormde de basis voor de ontwikkeling van een database die gezondheidsgegevens van de behandelde honden in Nederland omvat. Op basis van de resultaten van analyses met deze database kunnen prioriteiten worden gesteld en diagnostische tests worden ontwikkeld. De faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht, is momenteel bezig met de ontwikkeling van deze database (Expertisecentrum Genetica Gezelschapsdieren, 2014).

In 2014 introduceerde de Nederlandse Kennel Club het projectplan 'Fairfok' met het doel om de gezondheid, het welzijn en het gedrag van de Nederlandse rashond te verbeteren en daarmee het Nederlandse publieke opinie over rashonden en raszuivere honden te verbeteren. Eén van de ambities van dit project is dat de huidige afstammingsbewijs een kwaliteitscertificaat van het fokproces zal worden. Op deze manier wordt inzicht gegeven in het moeite die fokkers steken in het fokken van gezonde rashonden. Een andere ambitie is om het aandeel Nederlandse rashonden met een genetische aandoening te verminderen, van de huidige 40% tot een maximum van 25% in 2019 en een maximum van 10% in 2024. In het projectplan worden concrete maatregelen beschreven om de ambities te realiseren. Eén van deze maatregelen is de oprichting van een DNA-database. Sinds de zomer van 2014 wordt van alle geboren raspups een DNA-monster genomen om hun afkomst te bevestigen. Datzelfde DNA kan worden gebruikt voor grootschalige studies van genetische aandoeningen, die hopelijk leiden tot nieuwe diagnostische testen die kunnen worden gebruikt voor het selecteren tegen deze aandoeningen (Raad van Beheer, 2014).

1.6. Het Markiesje

Het Markiesje, ook wel bekend als de Nederlandse Tulp Hond, is het jongst erkende Nederlandse hondenras. Hoewel hun oorsprong ligt in de 17e en 18e eeuw in Frankrijk, Duitsland en Nederland (gebaseerd op schilderijen, figuur 2), werden Markiesjes nooit erkend tot de jaren 1970. In dit decennium ging een groep Nederlanders op zoek naar de honden met een grote gelijkenis met de Markiesjes in de schilderijen. Na enkele (onsuccesvolle) experimentele kruisingen met de Phalène, de Papillon en de Cavalier King Charles Spaniel werden de eerste rasechte Markiesjes geboren. Pom, een vrouwelijke look-alike geïmporteerd uit Frankrijk, wierp drie nesten en werd de stammoeder van het ras. In 1979 werd de rasvereniging - Nederlandse Markiesjesvereniging – opgericht (Romijn & Dirkse, 2014). Sindsdien zijn er met gebruik van uitkruising met een semi-open stamboek, ongeveer 2.500 Markiesjes zijn geregistreerd.



Figure 2. 'Marquise' de Pompadour with a Markiesje (Drouais, 1763)

In 1999 werd het voorlopige Stamboek van het NHSB voor de Markiesjes geopend. De rasverenigingen streven naar internationale erkenning door de FCI in de toekomst (Romijn & Dirkse, 2014).

Korte rasbeschrijving

Het Markiesje is een slank gebouwde spioen met een hoogte van 33-38 cm en een hoogte-lengte verhouding van ongeveer 9:10. Gemiddeld lichaamsgewicht is ca 5-9 kg. Volgens de rasstandaard is het Markiesje elegant en alert en mag nooit verdwerging tonen. Zijn vacht is halflang, glanzend en zwart en het heeft goed bevederde oren, poten en staart. Tot 40% van de vacht mag wit zijn, maar alleen op de borst, kop (behalve de wangen), nek, benen of staartpunt. Een Markiesje moet vriendelijk,

rustig en intelligent zijn en niet overmatig blaffen noch tekenen van angst of agressie vertonen. Hoewel nog niet erkend, zou het ras worden ingedeeld in groep 9, Gezelschapshonden van de FCI (Morris, 2002; Romijn & Dirkse, 2014).

Algemene regels fokken en het Breed Adviescommissie

Om de fokkerij te beheren en een gezonde populatie te behouden zijn er Verenigings Fok Reglementen van de rasvereniging, die grotendeels in lijn met - en soms iets strenger dan - de nationale regels fokkerij zijn. De belangrijkste regels voor dit onderzoek zijn (Nederlandse Markiesjesvereniging, 2015):

- Een teef mag niet worden gepaard aan haar grootvader, vader, zoon, kleinzoon, broer of halfbroer.
- Een combinatie tussen een reu en een teef mag niet worden herhaald, tenzij het aantal nakomelingen dat in aanmerking komt voor de fokkerij minder is dan drie of wanneer de combinatie van belang is voor gezondheidsonderzoek.
- De minimale leeftijd voor de fokkerij van zowel reuen als teven is 18 maanden. Een teef mag maximaal de leeftijd van 72 maanden hebben indien ze niet eerder een nest geworpen heeft en maximaal de leeftijd van 96 indien zij wel eerder een nest geworpen heeft. Een dekreu heeft geen maximum leeftijd.
- Een reu mag onbeperkt voor de fokkerij worden ingezet gedurende een jaar, maar met de beperking van maximaal 5 effectieve nesten in zijn hele leven (effectief wil zeggen minimaal 1 nakomeling in het NHSB ingeschreven). Een teef mag tot maximaal 5 nesten werpen tijdens haar leven. De beperking van vijf nesten per ouderdier werd ingesteld rond 2008 (van Ederen, 2015).

Als toevoeging op deze fokregels geeft de Fok Advies Commissie van de rasvereniging fokadviezen en controleert zij alle nieuwgeboren nesten. Als de pups ca 1,5 jaar oud zijn worden zij opgeroepen een jonge-hondendag te bezoeken waar zij worden bekeken en waar besloten wordt of ze geschikt zijn voor de fokkerij (Romijn & Dirkse, 2014).

Erfelijke aandoeningen in het Markiesje

Enkele erfelijke ziekten zijn geïdentificeerd in het Markiesje: patella luxatie (PL), progressieve rod-cone degeneratie of progressieve retina atrofie (PRA-PRCD) en een neuropathologische aandoening.

Patella luxatie (PL)

PL werd eerst waargenomen in het ras in 2007. PL is een aandoening waarbij de knieschijf ontwricht uit zijn normale stand, wat leidt tot kreupelheid. De aandoening is multifactorieel en heeft een gemiddelde erfelijkheid: ongeveer 0,27 in het Kooikerhondje en 0,17 in de Nederlandse Flatcoated Retrievers (Lavrijsen et al, 2013; Wangdee et al, 2014). Enkele loci worden geassocieerd met de ziekte (Lavrijsen et al, 2013; Prado & Nganvongpanit, 2014).

PL wordt gediagnosticeerd via lichamelijk onderzoek door een dierenarts. Vier klassen van PL worden onderscheiden, zoals in de onderstaande tabel (Alam et al., 2007).

Table 3. Grades and assessment criteria for patellar luxation (Alam et al., 2007)

Grade	Assessment criteria
I	The patella can be manually dislocated but returns to its normal position when released.
II	The patella spontaneously luxates during standing/walking and remains luxated until manually replaced to the normal position.
III	The patella is permanently luxated but can be repositioned manually.
IV	The patella is permanently luxated and cannot be repositioned manually.

PL kan zowel lateraal als mediaal zijn en kan voorkomen in een of beide kniegewrichten (Alam et al, 2007).

Progressieve rod-cone degeneratie (PRCD)

Deze vorm van progressieve retinale atrofie (PRA) werd eerst waargenomen in het ras in 2010. Bij PRCD degenereren de lichtreceptoren in de retina, wat leidt tot verminderd zicht en uiteindelijk tot volledige blindheid. De aandoening is monogenetisch autosomaal recessief en wordt veroorzaakt door een homozygote mutatie in het tweede codon van een proteïne-coderend gen op chromosoom 9. Het PRCD-gen voor honden is ortholoog aan het menselijk PRCD-gen op chromosoom 17, waarvoor verschillende sequentievarianties geassocieerd worden met retinale degeneratie bij mensen (Zangerl et al., 2006). PRA werd gevonden in 38 van de 50 meest populaire hondenrassen in het Verenigd Koninkrijk en was daarmee de derde meest voorkomende aandoening over binnen deze rassen (Summers et al., 2010). Er is geen bekende behandeling voor PRCD (Romijn & Dirkse, 2014).

Neuropathologische stoornis

In 2003 werd een onbekend neuropathologisch probleem waargenomen in het ras. Aangedane pups ontwikkelen een spastische parese, hebben moeite met lopen en moeten worden gedood. Universiteit Utrecht onderzoekt momenteel de genetische oorzaak van de ziekte. De aandoening wordt tot nog toe gezien als monogenetisch autosomaal recessief (Mandigers, 2015).

Beheer gericht tegen erfelijke aandoeningen

Om de verspreiding van bovengenoemde erfelijke aandoeningen te beperken, heeft de Markiesjes Ras Vereniging gezondheidsscreenings en fokkerijregels specifiek gericht op deze aandoeningen (tabel 4).

Table 4. Overview of inherited disorders and related health screenings/breeding rules in the Markiesje

Disorder	Putative mode of inheritance	Health screenings	Breeding rules
Patellar luxation (PL)	Multifactorial	PL-examination	Only "free x free" and "free x grade1" are allowed
Progressive rod-cone degeneration (PRCD)	Monogenic, autosomal recessive	PRCD-DNA test or ECVO examination	Only "free x free", "free x carrier" and as exception "free x affected" are allowed
Neuropathological disorder	Monogenic, autosomal recessive	-	Affected individuals, their parents and their litter mates are excluded

Sinds 2007 moeten potentiële fokdieren een PL-onderzoek ondergaan. Het PL-onderzoek wordt eenmalig uitgevoerd als de hond ten minste 12 maanden is, door een dierenarts volgens de Meutstege protocol. Sinds 2011 moeten fokdieren ook een ECVO (European College of Veterinary Oogartsen) ondergaan of een speciale PRCD-DNA-test. Het ECVO oogonderzoek kan worden uitgevoerd wanneer de hond minstens 18 maanden oud en is één jaar geldig, dus moet worden herhaald. De PRCD-DNA-test wordt sterk aanbevolen door de rasvereniging, want het identificeert ook dragers van de ziekte (van Ederen, 2015).

Ten aanzien van PL, alleen fokken met de combinaties "PL PL-free-x vrij" en "PL x PL-grad1-vrij" toegestaan. Ten aanzien van PRCD, de combinaties "PRCD-vrij x-PRCD-vrij", "PRCD-vrij x-PRCD-drager" en in uitzonderlijke gevallen "PRCD-vrij x PRCD-lijder" zijn toegestaan. Ten aanzien van de neuropathologische stoornis worden alle getroffen dieren, hun ouders en hun nestgenoten uitgesloten van het fokprogramma (Nederlandse Markiesjesvereniging, 2015).

1.7. De Stabijhoun

De Stabijhoun, in de volksmond bekend als de Stabij, Bijke of Friese Stabij, wordt verondersteld af te stammen van Spaniel-achtige honden die in de Middeleeuwen naar Nederland kwamen (figuur 3). Stabijhounen zijn gedocumenteerd in historische documenten en schilderijen die teruggaan tot 1800.

Het ras heeft zijn oorsprong op het platteland van Friesland, waar de stabijs onder andere werden gebruikt voor de jacht, het bewaken van de boerderij en ongediertebestrijding. In de vroege jaren 1900 werd de Stabij intensief gebruikt voor de jacht op mollen en bunzingen. Om hun vaardigheden te verbeteren, werden Stabijs gekruist met Wetterhounen, een ander Fries jachthondenras. Sinds 1938 groeide echter de bezorgdheid over het behoud van deze twee rassen en tijdens de Tweede Wereldoorlog is men met het georganiseerde fokken van de afzonderlijke rassen begonnen. In 1942 werden beide rassen erkend door de Nederlandse Kennel Club en de FCI. De rasvereniging 'Nederlandse Vereniging voor Stabij- en Wetterhounen' werd opgericht in 1947 (Dooper, 2004). Sinds 1952 zijn er ongeveer 16.700 Stabijhounen in het NHSB geregistreerd.



Figure 3. Spaniel-type dog (Jan Steen, 1625-1679)

Internationaal is het ras toegenomen in populariteit sinds 2000 en de rasvereniging heeft momenteel zusterverenigingen in Zweden, Finland, Denemarken, Noorwegen, het Verenigd Koninkrijk en de Verenigde Staten. Tegenwoordig worden de meeste Stabijhounen gehouden als gezelschapsdieren, maar sommigen worden nog steeds mede gebruikt voor bijvoorbeeld ongediertebestrijding (NVSW, 2015b).

Korte rasbeschrijving

De Stabij is een krachtig gebouwde staande hond die hoger is dan lang en niet te grof of te fijn mag zijn. Hij is toegewijd, gehoorzaam, waakzaam en rustig en is geschikt als huishond. Zijn vacht is halflang en recht en wit met zwarte of bruine vlekken en / of spikkels. De ideale hoogte voor reuen is 53 cm en voor teven 49 cm. Het lichaamsgewicht ligt rond de 20-25 kg. De Stabij is ingedeeld in groep 7 van de FCI, die de Voorstaande Jachthonden omvat (NVSW, 2015).

Fokreglementen en de Fok Advies Commissie

De belangrijkste fokkerijregels van de rasvereniging met betrekking tot de huidige studie zijn (NVSW, 2015):

- Een teef mag niet worden gepaard aan haar grootvader, vader, zoon, kleinzoon of broer.
- Combinaties die een nest zouden geven met een COI van > 10%, berekend over drie generaties, worden sterk afgeraden.
- Een combinatie tussen een reu en teef mag niet worden herhaald, behalve in bijzondere omstandigheden.
- De minimale leeftijd voor de fokkerij van zowel reuen als teven is 18 maanden. Een teef mag maximaal de leeftijd van 72 maanden hebben indien ze niet eerder een nest geworpen heeft en maximaal de leeftijd van 96 indien zij wel eerder een nest geworpen heeft. Een dekreu heeft geen maximum leeftijd.
- Een dekreu kan tweemaal worden gebruikt in de loop van een jaar en is beperkt tot 10 effectieve nesten maximaal in zijn hele leven (effectief wil zeggen minimaal 1 nakomeling in het NHSB ingeschreven), waarvan maximaal 8 in Nederland. Een teef heeft een maximum van 5 effectieve dekkingen en mag niet worden gedekt binnen 12 maanden na de vorige dekking.

De Fok Advies Commissie van de rasvereniging beoordeelt de aanvragen op naleving van het fokbeleid, geeft advies en controleert alle nieuw geboren nesten. Wanneer de pups 1,5 jaar oud zijn worden ze opgeroepen om de jonge hondendag te bezoeken (NVSW, 2015).

Erfelijke aandoeningen in de Stabij

De volgende erfelijke ziekten zijn geïdentificeerd in de Stabijhounpopulatie: heupdysplasie (HD), elleboogdysplasie (ED), epilepsie, Persisterende Ductus Arteriosus (PDA), cerebrale disfunctie (CD) en ziekte van von Willebrands type 1 (vWD type 1).

Heupdysplasie (HD)

In 1972 werd de eerste screening van een Stabijhoun voor HD werd uitgevoerd. HD is een orthopedische ontwikkelingsstoornis die tot misvorming van het heupgewricht leidt. De aandoening kan leiden tot pijn en ongemak tijdens het sporten en kan leiden tot kreupelheid. Hoewel HD wordt waargenomen bij honden van alle groottes, komt het vaker voor in grote en zeer grote honden, met een prevalentie tot 70% in onder andere Golden Retrievers, Rottweilers en Duitse herders (Paster et al, 2005; Lavrijsen et al., 2014; Sanchez-Molano, 2014). De aandoening is multifactorieel en heeft een matige erfelijkheid, naar schatting 0,20-0,43 gemeten in verschillende Engelse hondenrassen (Lewis et al., 2013) en 0,0-0,37 voor aparte HD-gerelateerde kenmerken in Nederlandse rassen (Lavrijsen et al., 2014). Genoomwijde analyses hebben enkele mogelijke genen voor HD geïdentificeerd waarmee ras-specifieke genetische prognostische modellen werden ontwikkeld (bijvoorbeeld (Bartolomé et al., 2015)). Deze modellen kunnen worden gebruikt om de huidige fenotypische selectie tegen HD vervangen door een nauwkeurigere genomische selectie. Genomische selectie lijkt echter niet haalbaar voor de meeste hondenrassen omdat het een grote hoeveelheid SNP data en een uitgebreide registratie vereist (Oldenbroek & Windig, 2012).

De beoordeling van heupdysplasie varieert van land tot land, maar is over het algemeen gebaseerd op röntgenfoto's. In 1999 heeft de FCI een classificatiesysteem ingesteld dat radiologisch controleerbare functies gebruikt. In dit systeem is het HD-resultaat afhankelijk van de vorm en de diepte van het acetabulum, het optreden van sublaxatie, de Norberg hoek (NA) en de aanwezigheid van osteoartrose (OA). De NA is een maatstaf voor de verbinding tussen het dijbeen en heupkom en ongeveer 105 ° in de normale heupgewrichten (Flückiger, 2007). In tabel 5 is het FCI classificatiesysteem samengevat.

Table 5. Grades and assessment criteria of canine hip-dysplasia (Flückiger, 2007)

Grade	Degree of HD	Assessment criteria
HD-A	No signs of HD	Congruent femoral head and acetabulum and NA \approx 105°
HD-B	Nearly normal	Slightly incongruent femoral head and acetabulum or NA < 105°
HD-C	Mild HD	Incongruent femoral head and acetabulum and NA \approx 100° and/or flattening of craniolateral rim of acetabulum and no more than slight signs of OA
HD-D	Moderate HD	Obvious incongruity with sublaxation and NA > 90° and flattening of craniolateral rim and/or signs of OA are present
HD-E	Severe HD	Luxation or sublaxation and NA < 90° and obvious flattening of craniolateral rim and signs of OA are present

In sommige landen zoals de USA wordt de OFA score (Orthopedic Foundation for Animals) gebruikt in plaats van het FCI-systeem. Het OFA-systeem kent 7 gradaties (Flückiger, 2007).

Elleboogdysplasie (ED)

Werd voor het eerst vastgesteld bij een Stabijhoun in 1989. De term ED wordt gezamenlijk gebruikt voor vier afwijkingen in het ellebooggewricht die alle osteoartrose (OA) en kreupelheid (IEWG, 2015) kunnen veroorzaken:

- ununited anconeal proces ofwel losse processus anconeus (UAP of LAP), een klein stukje bot dat essentieel is voor de gezamenlijke stabiliteit, is niet verbonden met de ellepijp.
- Elleboog incongruentie (welke aanleiding kangeven tot FCP of LPA), een stukje kraakbeen ligt los van de ulnus. De losse stukje kraakbeen bij honden met UAP en FCP veroorzaakt irritatie, infectie en schade aan het gewricht.
- Osteochondrose (OC) of osteochondritis dissecans (OCD): een los deel kraakbeen wat leidt tot een verdikte kraakbeenlaag (OC) en wat zich kan ontwikkelen tot enkele of gefragmenteerde kraakbeen flap (OCD).
- Incongruentie (INC): een onjuiste plaatsing van de gewrichtsoppervlakken, meestal veroorzaakt door een ongelijke groei van de radius en / of ellepijp of een misvormde trochlear

inkeping (die verbindt met de aansluiting in de kop van de humerus de ulna). incongruentie leidt tot een abnormale verdeling van de druk op het gewricht.

ED komt evenals HD vooral voor bij grote en zeer grote rassen en kent in sommige rassen incidenties van meer dan 60%. Een erfelijkheid variërend 0,0-0,39 is gerapporteerd voor ED-gerelateerde kenmerken in Nederlandse rassen (Lavrijsen et al., 2014). Een aanzienlijk hogere erfelijkheid voor bepaalde types ED is gemeld in andere landen, bijvoorbeeld in de Duitse herder Honden 0,57 voor FCP in Duitsland (Lewis et al., 2013).

De eerste klinische tekenen van ED worden algemeen gezien op een leeftijd van 4-9 maanden. Voor de beoordeling van het ED is een classificatiesysteem ontwikkeld door de International Elbow Working Group (IEWG). Dit systeem maakt gebruik van vier gradaties met tekenen van OA, osteosclerose en primaire laesies als beoordelingscriteria (tabel 6).

Table 6. Grades and assessment criteria of canine elbow dysplasia (IEWG, 2015)

Grade	Degree of ED	Assessment criteria
0	No ED	No evidence of OA, no osteosclerosis <i>nor</i> any primary cause
1	Mild ED	Signs of mild OA (osteophytes of < 2 mm) <i>or</i> minor osteosclerosis
2	Moderate ED	Signs of moderate OA (osteophytes of 2-5 mm) <i>or</i> obvious osteosclerosis <i>or</i> suspect of primary lesion*.
3	Severe ED	Signs of severe OA (osteophytes of ≥ 5 mm) <i>or</i> obvious primary lesion*.

*Primary lesions include an ununited anconeal process (UAP), fragmented medial coronoid process (FCP), osteochondritis dissecans (OCD) and incongruity (INC).

Er zijn overwegend positieve correlaties tussen HD en ED gemeld (Lewis et al., 2013).

Epilepsie

Epilepsie is de meest voorkomende neurologische aandoening bij honden, met een prevalentie van idiopathische epilepsie van 0,5 tot 5%. Epilepsie houdt in dat er terugkerende en niet uitgelokte epileptische aanvallen optreden, waarbij er een overmatige of synchrone neuronale activiteit in de hersenen plaatsvindt. Symptomen van de aanvallen zijn onder andere neervallen, spiertrekkingen, bewustzijnsverlies en schuim op de mond. De symptomen beginnen meestal wanneer een hond 3-6 maanden oud is. Naast idiopathische epilepsie, waarbij de aanvallen het directe gevolg zijn van een of meer genetische defect(en), kan epilepsie ook worden veroorzaakt door omgevingsfactoren zoals stofwisselingsziekten (Ekenstedt et al., 2012).

De veel hogere prevalentie van idiopathische epilepsie - tot 9% in sommige rassen en tot 33% in sommige families – wijst op een duidelijke genetische oorzaak (Ekenstedt et al., 2012). De aandoening wordt algemeen beschouwd als polygeen autosomaal, hoewel sommige epilepsie kan worden veroorzaakt door één enkele mutatie. Tot op heden zijn er slechts een paar risicogenen geïdentificeerd, met *ATEEF23* als de meest veelbelovende locatie. De genetische heterogeniteit van de ziekte, de niet-genetische oorzaken en de beperkte hoeveelheid gegevens vertragen de verdere identificatie van risicogenen (Koskinen et al., 2015).

Persisterende Ductus Arteriosus (PDA)

PDA is een van de meest voorkomende aangeboren hartaandoeningen bij honden. Hierbij wordt de ductus arteriosus - het bloedvat dat de longslagader en de aorta in een foetus verbindt - na de geboorte niet in de eerste week gesloten. Aangetaste dieren hebben een overvloedige recirculatie van bloed door het hart, hetgeen uiteindelijk kan leiden tot dodelijk hartfalen van de linkerharthelft (Oyama et al., 2010).

Een algemene prevalentie van aangeboren hartafwijkingen van 0,50-0,68% is gemeld in ziekenhuisonderzoeken. Een kwart tot een derde van de gevallen betrof PDA, wat betekent dat de geschatte prevalentie 0,1-0,2% is. Honden zoals de Chihuahua, Collie en de Malteser, en in sommige regio's ook grotere honden zoals de Duitse herder en Newfoundlander, worden het meest getroffen door PDA. Teven zouden een 1,7-3,0 maal hogere aanleg voor PDA hebben dan reuen (Oyama et al,

2010; Oliveira et al, 2011). De hogere prevalentie in sommige rassen suggereert een genetische aanleg. De aandoening wordt beschouwd als een polygene drempel eigenschap met een hoge erfelijkheidgraad (Patterson et al., 1971).

Cerebrale disfunctie (neuro)

Cerebrale disfunctie is een erfelijke neurologische aandoening gevonden in enkele Stabijhounnestjes. Aangedane pups beginnen dwangmatig gedrag te vertonen, eten niet zelfstandig, vermageren, hebben vermoedelijk veel pijn, en moeten worden geëuthanaseerd als ze een paar maanden oud zijn. In 2015 werd een autosomaal recessieve mutatie geïdentificeerd door de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Utrecht als de genetische oorzaak van de ziekte (NVSW, 2015d).

De ziekte van von Willebrand, type 1 (vWD-1)

VWD-1 werd eerst waargenomen in het ras in 2007. Von Willebrand ziekte is de meest voorkomende erfelijke bloedziekte bij honden en wordt gekenmerkt door tekortkomingen in de von Willebrand Factor (vWF), een belangrijk eiwit voor bloedstolling. Type 1 is de meest voorkomende en mildste van de drie onderscheiden typen vWD. Het wordt veroorzaakt door een mutatie (G> A) in het vWF-gen en wordt gekenmerkt door een verlaagd geconcentreerde maar normale werking van vWF. Er is incomplete dominantie: heterozygote dragers van de type 1-mutatie hebben in het algemeen minder dan de helft van het normale vWF en homozygote dragers hebben weinig tot geen vWF. Het belangrijkste klinische teken is een langere stollingstijd (Barr & McMichael, 2012;. Shaffer et al, 2015). Een DNA-test beschikbaar is voor de aandoening (NVSW, 2015c).

Beheer gericht tegen erfelijke aandoeningen

Om de verspreiding van de hierboven genoemde aandoeningen te beperken, heeft de rasvereniging van de Stabijhoun (verplichte) gezondheidscreenings en fokbeleid, specifiek op de afwijkingen gericht, ingesteld (tabel 7).

Table 7. Overview of inherited disorders and related health screenings/breeding rules in the Stabyhoun

Disorder	Putative mode of inheritance	Health screenings	Breeding rules
Hip dysplasia (HD)	Multifactorial	X-rays [†]	<ul style="list-style-type: none"> • HD-D or -E are excluded • Combinations between HD-A or -B and HD-A, -B or -C are allowed
Cerebral dysfunction (neuro; CD)	Monogenic, autosomal recessive	DNA-test [‡]	<ul style="list-style-type: none"> • Affected individuals are excluded • Combination of two carriers is not allowed
Elbow dysplasia (ED)	Multifactorial	X-rays	<ul style="list-style-type: none"> • Individuals with grade 3 or that had to undergo surgery are excluded • Proven carriers excluded*
Epilepsy (idiopathic)	Polygenic	-	<ul style="list-style-type: none"> • Affected individuals are excluded • Proven carriers are excluded*
Patent ductus arteriosus (PDA)	Polygenic	-	<ul style="list-style-type: none"> • Affected individuals are excluded • Proven carriers are excluded*
Von Willebrands disease, type I (vWD-I)	Monogenic, autosomal, incomplete dominance	DNA-test	-

[†] Screening is mandatory for potential breeding individuals.

[‡] DNA-test was developed and made mandatory for breeding individuals in 2015.

*Parents of 2 affected litters are considered to be proven carriers.

De screening van potentiële fokdieren op HD is verplicht sinds tenminste 1985. Dieren met matige of ernstige HD (D of E) worden uitgesloten van de fokkerij en dieren met een milde HD (C) mogen alleen worden gecombineerd door dieren met normale of bijna normale heupgewrichten (A of B).

Sinds 2015 is de DNA-test voor cerebrale disfunctie verplicht voor potentiële fokdieren. Dieren waarvan beide ouders homozygoot vrij zijn hoeven de DNA-test niet te ondergaan (NVSW, 2015).

Screening op elleboogdysplasie is aanbevolen, maar niet verplicht voor fokdieren in Nederland (het is verplicht in een aantal van de Scandinavische landen). Dieren die een operatie hebben ondergaan of zijn gediagnosticeerd met ED graad 3 worden echter uitgesloten van de fokkerij.

Met betrekking tot epilepsie en PDA zijn er nog geen testen beschikbaar (NVSW, 2015). In 2013 werd er van een groot aantal Stabijhounen bloedmonsters genomen door de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit van Utrecht teneinde de genetische achtergrond van PDA te bestuderen. Dit zou in de toekomst tot een test kunnen leiden.

Ten aanzien van vWD-1 is er een passief fokbeleid. Er is een DNA-test beschikbaar, maar deze is niet verplicht. Lijder x lijder en lijder x drager wordt echter niet aanbevolen door de Fok Advies Commissie van de rasvereniging (NVSW, 2015c).

1.8. Doel en onderzoeksvragen

Het doel van deze studie was om heldere aanbevelingen te formuleren die de rasverenigingen kunnen ondersteunen in het handhaven van de genetische diversiteit en het bevorderen van de gezondheid en het welzijn van de rassen. Dit vereist inzicht in de huidige stand van de populatie '(populatiegrootte, het percentage fokdieren, generatie-interval, enz.) en van de genetische diversiteit in de rassen. Informatie over de erfelijke aandoeningen in de verschillende rassen en de effectiviteit van het gebruikte fokbeleid was bovendien nodig, wat leidde tot de volgende onderzoeksvragen:

1. Wat is de huidige stand van zaken en de genetische diversiteit in de populatie van de Stabij en het Markiesje en hoe hebben deze zich ontwikkeld sinds de oprichting van het ras?
2. Wat is de prevalentie van de erfelijke aandoeningen in het Markiesje en de Stabij en welke risicofactoren voor deze aandoeningen kunnen worden geïdentificeerd?
3. Wat is het effect van de verschillende fokbeleid op de inteelt en op de generatie-interval bij het Markiesje en de Stabijhoun?
4. Wat is het effect van het uitsluiten van lijders en/of dragers van genetische aandoeningen op het inteeltgetal in het Markiesje en de Stabijhoun?
5. Hoe kan, gezien de huidige status van de populatie en de genetische diversiteit, het fokken van het Markiesje en de Stabij worden geoptimaliseerd?

Om de bovenstaande vragen te beantwoorden, werden verschillende analyses uitgevoerd. Hoe deze analyses werden uitgevoerd wordt beschreven in het volgende hoofdstuk.

2. Materialen en methoden

Gegevens van alle geregistreerde Markiesjes en Stabijhounen werden gewonnen uit de database ZooEasy, gebruikt door beide rasverenigingen. De eerste dataset bevatte 2473 Markiesjes en 16.688 Stabijhounen. De 66 Markiesjes en 9 Stabijhounen die noch geregistreerde ouders, noch geregistreerde nakomelingen hadden werden uitgesloten van de analyses. Van de resterende 2407 Markiesjes en 16.679 Stabijhounen was het unieke registratienummer, het geslacht en de naam bekend. Met uitzondering van drie Markiesjes waren ook de geboortedata bekend. De drie Markiesjes zonder bekende geboortedatum werden uitgesloten van jaarbasis-analyses. Variërend per individu waren de data van overlijden, registratienummers van de ouders en de resultaten van de gezondheid screenings bekend.

Deelverzamelingen van de oorspronkelijke dataset werden gebruikt voor de drie analyses: de stamboom-analyse (onderzoeksvraag 1), de analyse van erfelijke aandoeningen (onderzoeksvraag 2) en de simulatie van de fokkerijstrategieën (onderzoeksvragen 3 & 4).

2.1. Stamboom onderzoek

Voor beide populaties werd een vereenvoudigd bestand opgebouwd met het ID, de vader van het ID, de moeder van het ID, het geslacht, de geboortedatum en de datum van overlijden van elk ID (individu). Deze bestanden werden gescand op mogelijke duplicaten, tweeslachtige dieren (gebruikt als zowel vader als moeder) en de nakomelingen die eerder geboren waren dan hun ouders. Verdere analyse werd uitgevoerd met behulp van Microsoft Excel 2010, de monitor en de Coancestry Inteelt, inteelt en bijdrage (CFC) -Software.

Algemene populatieparameters

De volgende algemene populatieparameters werden berekend en in beeld gebracht met behulp van Microsoft Excel:

- *Levensduur*: het gemiddelde verschil tussen de datum van overlijden en de geboortedatum. Deze parameter werd berekend met behulp van alle bekende dieren met een bekende geboortedatum en datum van overlijden en geboren vóór een bepaalde datum (de datum waarop de gegevens zijn verkregen na aftrek van de maximale levensduur). Alle dieren die geboren zijn na deze datum werden uitgesloten van de berekening om vertekening te voorkomen. Markiesjes met een overlijdensdatum van 01/01/2001 werden uitgesloten van de berekening, omdat deze bijzondere overlijdensdatum werd later toegevoegd door de rasvereniging voor die dieren die werden verondersteld dood te zijn.
- *Worpgrootte*: het aantal jongen per unieke worp. Unieke worpen werden gedefinieerd als unieke combinaties van de teef, reu en geboortedatum.
- *De gemiddelde leeftijd van de reuen/teven bij de geboorte van hun (geselecteerde) nakomelingen*: het gemiddelde verschil tussen de geboortedatum van de ouder en de geboortedatum van de (geselecteerde) nageslacht. Deze parameter werd berekend met zowel nesten als nakomelingen. De gemiddelde leeftijd van de ouders bij de geboorte van de geselecteerde nakomelingen, de zogenaamde generatie-interval, werd gelijk berekend met als extra criterium dat de ID van de nakomelingen tenminste eenmaal als ouderdier diende voor te komen.
- *Het aantal (geselecteerde) nakomelingen per reu/teef*: het aantal keren dat een individu voorkwam als ouderdier. Het aantal geselecteerde nakomelingen werden eveneens berekend, opnieuw met het extra criterium dat de nakomelingen ten minste eenmaal voorkwamen als ouder.

De gemiddelde waarden van de bovengenoemde parameters werden vergeleken tussen reuen en teven met onafhankelijke t-test steekproeven. Als gelijke varianten niet konden worden aangenomen, werd de Satterthwaite-benadering gebruikt. Grote aantallen zorgen voor de geldigheid van de t-test, ondanks de niet-normale verdeling van vele parameters.

De huidige omvang van de populatie werd geschat via een paar stappen. Om te beginnen werden dieren met een overlijdensdatum en dieren die ouder zouden zijn dan de maximale aanvaarde leeftijd verondersteld dood te zijn. Vervolgens werd de kans nog te leven toegewezen aan elk dier, gebaseerd op de leeftijdsverdeling van dieren met bekende data van geboorte en overlijden. Al deze 'fracties' van dieren werden vervolgens opgeteld om de schatting van het aantal levende dieren te krijgen.

Stamboekvolledigheid

De stamboekvolledigheid werd vastgesteld, omdat deze sterk het resultaat van de coëfficiënten van inteelt (COI) en coancestry (MacClure et al., 1983) beïnvloedt. Drie maatregelen voor stamboekvolledigheid werden gebruikt:

1. *Volledig bekende voorouderlijke generaties (tot > 5 generaties)*: dit werd berekend door voorouders terug te traceren per generatie tot ten minste één onbekende voorouder.
2. *Gemiddeld equivalent laatste generaties (EcG)*: de som van alle bekende voorouders, waar elke voorouder wordt vastgesteld met $1/2n$, waarbij n het aantal is dat generaties scheidt van de voorouder van het individu.
3. *Langste voorouderlijke pad (LAP)*: het aantal generaties dat een individu uit de verste voorouder scheidt. Dit getal komt overeen met het aantal pseudo-generaties (ψ) en wordt berekend volgens het feit dat het ψ van een dier steeds gelijk is aan het maximum ψ van de ouders plus één (Sargolzaei et al., 2006).

De eerste twee parameters werden berekend per geboortjaar met de inteeltmonitor. De verdeling van de LAPs voor de hele populatie werd berekend met CFC. De interpretatie van de drie parameters is weergegeven in figuur 4. In dit voorbeeld is het aantal volledig bekend voorouderlijke generaties individuele f is 1 (twee grootouders ontbreken) en LAP is 3. Het EcG is gelijk aan 1,75, hetgeen de som is van de vastgestelde waarden van alle bekende voorouders, met andere woorden, twee ouders ($2 * 1/2$), twee grootouders ($2 * 1/2^2$) en één overgrootouder ($1/2^3$).

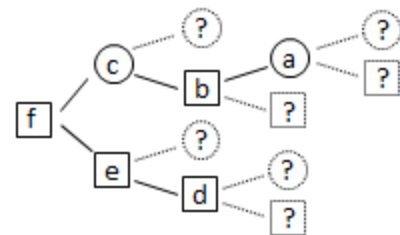


Figure 4. Example of a pedigree for calculating completeness

Coëfficiënten van inteelt en verwantschap

De inteeltcoëfficiënt van individuen (F_i) en verwantschap tussen individuen (f_{ij}) werden berekend met de monitor en met CFC, die beide gebruik maken van een indirect algoritme dat is gebaseerd op de vermenigvuldiging van de numerator relationship matrix. Dit algoritme is ontwikkeld door Colleau (Colleau, 2002) en aangepast door Sargolzaei et al. (Sargolzaei et al., 2005). Dieren werden gegroepeerd per geboortjaar om het gemiddelde COI (\bar{F}) en de gemiddelde verwantschap (\bar{f}) per jaar te berekenen.

Genetische diversiteit, inteelt en effectieve populatiegrootte

De verandering van de genetische diversiteit gedurende de ontwikkeling van de rassen werd geëvalueerd op twee manieren: het percentage inteelt/verwantschap en bijbehorende effectieve populatieverhoudingen en parameters op basis van de waarschijnlijkheid van genen-oorsprong. De mate van inteelt gedurende twee opeenvolgende jaren werd eerst berekend met behulp van (Oldenbroek & Windig, 2012):

$$\Delta \bar{F}_y = \frac{(\bar{F}_x - \bar{F}_{x-1})}{(1 - \bar{F}_{x-1})}$$

waarbij $\Delta \bar{F}_y$ de inteeltgraad per jaar is, \bar{F}_x is het gemiddelde COI van dieren geboren in jaar x en \bar{F}_{x-1} COI-1 is het gemiddelde in het voorgaande jaar. De $\Delta \bar{F}_y$ is eerder multiplicatief dan additief. Aangezien de heterozygote genotypefrequenties in een ingeteelde populatie gelijk is aan $2pq(1-F)$, zoals

weergegeven in tabel 1, meet $\Delta\bar{F}$ feitelijk de fractie van heterozygotie die na verloop van tijd verdwijnt. Een natuurlijke log transformatie werd gebruikt om een lineaire relatie daarvan te benaderen:

$$\ln(1 - \bar{F}_x) \approx -\Delta\bar{F}_y x + \ln(1 - \bar{F}_0)$$

waarbij x het aantal jaren in de periode is, $\Delta\bar{F}_y$ is de gemiddelde inteeltgraad per jaar in de periode en \bar{F}_0 en \bar{F}_x zijn het gemiddelde COI in respectievelijk jaar 0 en jaar x . Om de inteeltgraad per generatie te verkrijgen, werd $\Delta\bar{F}_y$ vermenigvuldigd met de generatie-interval.

Een equivalente benadering werd gebruikt voor de berekening van de verwantschapstoename ($\Delta\bar{f}$). Zowel inteelt als verwantschap binnen effectieve populatiegroottes werden daarna berekend voor verschillende perioden volgens de klassieke formules (Falconer et al., 1996):

$$N_e^F = \frac{1}{2\Delta\bar{F}_{gen}} \quad N_e^f = \frac{1}{2\Delta\bar{f}_{gen}}$$

waar $\Delta\bar{F}_{gen}$ en $\Delta\bar{f}_{gen}$ respectievelijk de inteeltgraad en verwantschapsgraad zijn per generatie.

Genetische diversiteit II: waarschijnlijkheden van genetische oorsprong

Parameters gerelateerd aan de waarschijnlijkheid van genetische oorsprong - founder equivalent, founder genoomequivalent en effectieve aantal niet-founders - werden berekend met CFC om de genetische diversiteit verder te beschrijven. Founders werden gedefinieerd als dieren zonder bekende ouders en werden verondersteld geen genetische relatie met een ander dier in het stamboek dan hun afstammelingen hebben. Dieren met één ontbrekende ouder werden gedefinieerd als semi-founders. De ware- en semi-founders waren verantwoordelijk voor de eerste genetische diversiteit aanwezig in de onderzochte populaties.

Het founder equivalent (f_e) of effectieve aantal founders wordt gedefinieerd als het aantal evenredig bijdragende founders die naar verwachting dezelfde genetische diversiteit produceren als de onderzochte bevolking. Een verschil tussen het totale aantal van de founders en de f_e wijst op een ongelijke bijdrage van de founders, dus selectie. Voor een referentiegroep bestaande uit alle dieren geboren in 2010-2015, werd de f_e berekend met CFK. De software implementeert de volgende formule van Lacy (Lacy, 1989; Sargolzaei et al., 2006):

$$f_e = \frac{1}{\sum_{j \in \text{FOUN}} \left[\frac{\sum_{i \in G} (t_{ij})}{n_g} \right]^2}$$

waarbij Foun de set founders is, G is de verzameling dieren in de referentiegroep, t_{ij} is de fractie genen die oorspronkelijk i afkomstig zijn van de founder j (als onderdeel van de relatie matrix) en n_g is het aantal dieren in de groep.

Het founder genoomequivalent (f_{ge}), dat gelijk is aan f_e maar bovendien corrigeert voor het aandeel founder genoom dat verloren gaat door drift, werd berekend met de formule van Caballero en Toro (Caballero & Toro, 2000; Sargolzaei et al., 2006):

$$f_{ge} = \frac{1}{2\bar{f}}$$

waarbij verwantschap \bar{f} het gemiddelde is van de groep in kwestie. Het verschil tussen f_e en f_{ge} is een indicatie van het aantal founders en non-founders tijdens de genetische drift. Dit verschil wordt gekwantificeerd door het effectieve aantal niet-founders (f_{ne}), dat werd berekend met CFC als (Caballero & Toro, 2000; Sargolzaei et al., 2006):

$$f_{ne} = \left[\frac{1}{f_{ge}} - \frac{1}{f_e} \right]^{-1}$$

De verhouding van de genetische diversiteit van de founders ten opzichte van de referentiepopulatie werd berekend met (Lacy, 1995):

$$GD_t = 1 - \frac{1}{2f_{ge}} \quad GD_t^* = 1 - \frac{1}{2f_e}$$

waar de formule aan de linkerkant staat voor zowel de ongelijke founder bijdrage als de genetische drift en de formule op de rechterzijde alleen staat voor de ongelijke founder bijdrage. Het verlies van GD als gevolg van selectie en drift werd vervolgens bepaald met $1 - GD_t$ en het verlies van GD als gevolg van alleen selectie werd bepaald met $1 - GD_t^*$, waarbij wordt aangenomen dat de initiële GD ongeveer 1 was. Het verlies als gevolg van de oorspronkelijke drift opgebouwd over niet-founder generaties werd berekend als (Caballero & Toro, 2000):

$$GD_t^* - GD_t = \frac{1}{2f_{ne}}$$

Bijdragen van de founder genen aan de genenpool (GP), gemiddelde inteeltcoëfficiënt (F) en de gemiddelde verwantschap (f) van de referentiegroep werden ook berekend met CFK. Deze berekening paste de eenvoudige vuistregel toe dat een willekeurig gekozen autosomaal allel van een individu een kans heeft van $1/2$ afkomstig te zijn van iedere ouder, $1/4$ van een grootouder en $1/2^x$ tot een voorouder in de x e voorouderlijke generatie. De bijdragen aan F en f componenten werden berekend volgens de methode van Sargolzaei en Colleau, waarbij de ontleding van F f en de bijdragen van Mendeliaanse sampling variaties van voorouders omvat en welke vervolgens gekoppeld worden aan de bijgedragen genen van gemeenschappelijke voorouders (Sargolzaei & Colleau 2006; Sargolzaei et al, 2006).

2.2. Analyse van erfelijke aandoeningen

De bestanden met stamboomgegevens werden uitgebreid met de beschikbare informatie over de genetische aandoeningen van belang. Voor de Markiesjes betreft dit de status van de PL als het resultaat van het onderzoek door een dierenarts middels het Meutstege protocol, de PRCD status als het resultaat van het onderzoek door een ECVO dierenarts en de resultaten van de PRCD DNA-test. Aangaande de Neuropathologie waren alleen de getroffen dieren bekend. Bij de Stabijhoun ging het bij HD en ED om resultaten verkregen via röntgenfoto's en de vWD-1 status om resultaten aan de hand van DNA-onderzoeken verkregen. Ten aanzien van epilepsie, PDA, en CD waren alleen aangedane dieren bekend.

Prevalentie van een aandoening werd over het algemeen geschat als het aantal gerapporteerde getroffen dieren (na) in een periode gedeeld door het totaal aantal dieren geboren in dezelfde periode ($ntot$), die ook de onaangetast dieren bevat (nu). Wanneer de resultaten van gezondheidsonderzoeken en DNA testen beschikbaar waren, werden deze gebruikt om een meer nauwkeurige schatting van de prevalentie krijgen. In deze situaties werd de prevalentie van de gescreende dieren, de "maximale prevalentie", vergeleken met het voorkomen in alle individuen, de "minimale prevalentie". Wanneer voldoende gegevens beschikbaar waren, werd de prevalentie geschat voor een recente periode (bijvoorbeeld 2010-2014) om inzicht te krijgen in de huidige incidentie van de aandoening.

Sexe-gerelateerde aanleg werd onderzocht met het relatieve risico (RR) en kansen ratio (OR). Beiden werden berekend uit de mannelijke en vrouwelijke prevalentie:

$$RR = \frac{p_1}{p_2} \quad OR = \frac{p_1 / (1 - p_1)}{p_2 / (1 - p_2)}$$

waarbij n_1 de geschatte prevalentie voor groep 1 ($na_1 / ntot_1$) is en p_2 de geschatte prevalentie voor groep 2 ($na_2 / ntot_2$). Voor lage prevalentie geven de RR en OR zeer vergelijkbare resultaten. Voor de berekening van het 95% -betrouwbaarheidsinterval (CI_{95}) werd het natuurlijke logaritme van de RR en OR genomen aangezien de steekproefverdeling van \ln (RR of OR) ongeveer normaal is voor grote

aantallen. Toen werden de betrouwbaarheidsintervalgrenzen op de logaritmische schaal berekend volgens de formules (Ott & Longnecker, 2010):

$$\ln(RR) \pm z_{0.05/2} * \sqrt{\frac{n_{u1}/n_{a1}}{n_{tot1}} + \frac{n_{u2}/n_{a2}}{n_{tot2}}} \quad \ln(OR) \pm z_{0.05/2} * \sqrt{\frac{1}{p_1} + \frac{1}{1-p_1} + \frac{1}{p_2} + \frac{1}{1-p_2}}$$

waarbij $z_{0.05/2}$ gelijk is aan 1,96. De geschatte grenzen van de CI van de OR werden verkregen via machtsverheffen van de interval grenzen op de ln-schaal.

Voor monogene aandoeningen werd de frequentie van het mutante allel (q) geschat met behulp van het percentage van getroffen individuen in de populatie (q₂). Er werd gecontroleerd of deze eigenschappen in het Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) vielen of niet.

Andere stoornis-specifieke analyses, bijv. wat betreft de associatie tussen HD en ED, worden in de desbetreffende hoofdstukken verklaard.

2.3. Simulatie van fokstrategieën

Het simulatieprogramma Rashondenbeheer werd gebruikt om het effect van verschillende veredelingsstrategieën zoals de inteelttoename, de generatie-interval en de frequentie van erfelijke aandoeningen te evalueren. Dit programma is ontwikkeld door Wageningen Universiteit als onderdeel van het project Inteelt en Verwantschap in Rashonden (paragraaf 1.5).

Rashondenmanagement begint met de setup van de populatie. Het programma neemt aan het begin van de simulatie aan dat alle dieren onverwant en niet ingeteeld zijn. De simulatie zelf bestaat uit vier stappen die worden herhaald voor elke gesimuleerd jaar (figuur 5). Eerst wordt het nageslacht gegenereerd gebaseerd op door de parameters geïnitieerde paringen. Daarna worden inteeltcoëfficiënten van het nageslacht en de leeftijd en het aantal levende dieren geëvalueerd. Hierna worden dieren geruimd, gebaseerd op de leeftijdsverdeling van de fokpopulatie en de toegepaste paringsbeperkingen. Tenslotte worden de fokdieren geselecteerd uit de vernieuwde fokpopulatie (Windig et al., 2014).

De populaties van de Markiesjes en de Stabijhounen werden opgezet met behulp van algemene parameters zoals het aantal beschikbare teven voor de fokkerij, de leeftijdsverdeling van de fokdieren, het aantal nesten per jaar en de verdeling van de worpgrootte. Deze parameters werden afgeleid uit de resultaten van de stamboekanalyse. Het aantal beschikbare fokdieren en nesten werden geschat op basis van het gemiddelde aantal van de fokdieren in de periode 2010-2014. Als er een “popular sire effect” aanwezig was in het ras, dwz als één of enkele honden een groot deel van de nesten in de periode 2010-2014 verwekten, werd het aantal en de bijdrage van de topvererfers ook in de simulatie opgenomen. Dekbeperkingen werden gebruikt om de huidige fokbeleid bij beide rassen simuleren. Zo werd het maximum aantal nesten per vader ingesteld op 5 per leven voor de Markiesjes en 10 per leven voor de Stabijhounen. De frequenties van monogene erfelijke aandoeningen, zoals verkregen uit de analyse van erfelijke stoornissen, werden ook de basis-simulaties ingevoerd. Dekbeperkingen ten aanzien van deze aandoeningen werden gesimuleerd door te selecteren tegen de betrokken dieren en/of tegen de dragers. Selectie tegen lijders werd uitgevoerd met behulp van een “dodelijke leeftijd”, dat wil zeggen de leeftijd tot welke aangedane dieren mochten fokken. Deze leeftijd werd ingesteld op 0 wanneer de lijder niet mocht fokken en de ziektestatus werd voorafgaand aan de minimumleeftijd bekend. Selectie tegen dragers werd gesimuleerd met de volledige uitsluiting van mannelijke dragers en/of vrouwelijke dragers. Selectie tegen polygene aandoeningen niet kon worden gesimuleerd met de Rashondenbeheer software.

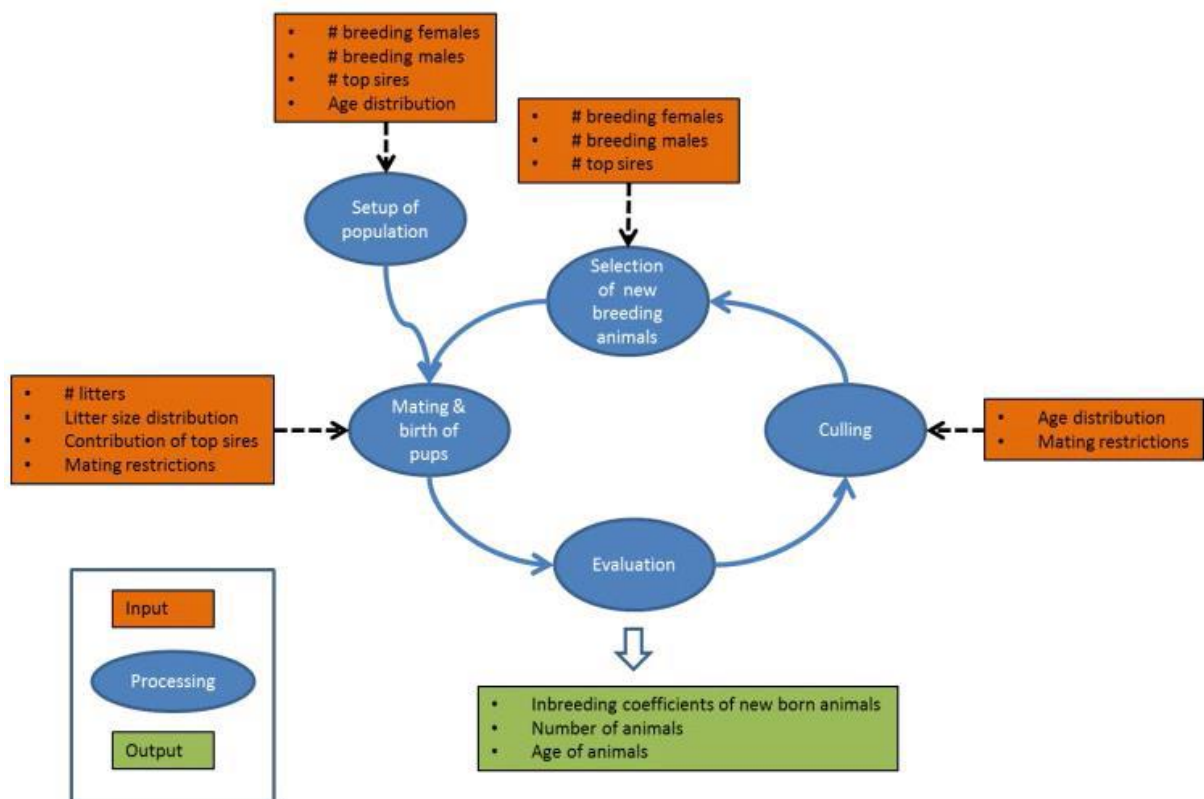


Figure 5. Schematic overview of the simulation program Dog Breed Management (Windig et al., 2014)

Simulaties werden uitgevoerd met 25 herhalingen en over 50 jaar per herhaling (tenzij anders vermeld in de resultaten).

3. Resultaten Markiesje

In dit hoofdstuk worden de resultaten van de stamboomanalyse en simulatie van fokstrategieën voor de analyse van erfelijke aandoeningen Markiesje gepresenteerd.

3.1. Stamboekonderzoek

In de dataset met 2407 Markiesjes waren er geen dubbele vermeldingen, tweeslachtige dieren of dieren die zijn geboren vóór hun ouders.

Algemene parameters bevolking

In tabel 8 zijn de algemene populatie parameters, gemiddeld over alle Markiesjes in de dataset, samengevat. Standaardafwijkingen en reeksen zijn opgenomen om de (grote) spreiding in de grenzen van de parameterwaarden te tonen. De mediaan is opgenomen om de scheefheid van de waarden van de parameter aan te geven. Grafieken van de uitkeringen zijn opgenomen in bijlage I.

Table 8. General population parameters Markiesje

Parameter	Mean \pm std.	Median	Range (min. - max.)	n
Life span (in years)	12.5 \pm 4.50	13.91	0.25 – 18.69	356*
Litter size	4.18 \pm 1.54	4	1 – 8	553 [□]
Age (in years) of:				
- sires at birth progeny	3.10 \pm 1.54	2.72	0.90 – 11.44	2318 [†]
- dams at birth progeny	3.92 \pm 1.66	3.53	0.51 – 9.25	2318 [†]
- sires at birth selected progeny	2.92 \pm 1.44	2.57	0.90 – 10.00	549 [‡]
- dams at birth selected progeny	3.92 \pm 1.78	3.51	0.51 – 9.25	556 [‡]
Number of:				
- progeny per sire	8.67 \pm 5.02	8	1 – 24	205 [*]
- progeny per dam	7.04 \pm 5.06	5	1 – 27	267 [*]
- selected progeny per sire	2.48 \pm 2.34	2	0 – 14	133 [°]
- selected progeny per dam	1.88 \pm 2.26	1	0 – 12	176 [°]

*Individuals born in 1977-1997 with a known date of birth and known date of decease.

[□] Unique litters with known date of birth and known sire and dam.

[†] Progeny with known date of birth and known date of birth of sire/dam.

[‡] Selected progeny with known date of birth and known date of birth of sire/dam.

^{*} Sires/dams born before 2008 (ensuring that on average a parent has had >95% of its progeny).

[°] Sires/dams born before 2002 (ensuring that on average the parents' progeny has reached the age on which >95% of the selected progeny has become parent).

Er was geen significant verschil in geslacht aangaande de gemiddelde levensduur ($P = 0,275$). Reuen waren gemiddeld jonger bij de geboorte van hun nageslacht dan teven ($P = 0,000$ voor geselecteerde nageslacht en voor iedereen). Reuen werden minder vaak gekozen voor de fokkerij dan teven: 26,2% van de mannen en 36,7% van de vrouwen geboren vóór 2008 werden geselecteerd (zie ook figuur 6). Reuen hadden gemiddeld iets meer nakomelingen dan teven ($P = 0,001$ voor alle nakomelingen, en $P = 0,047$ voor geselecteerde nageslacht).

Het aantal nieuw geregistreerde dieren per jaar, bestaande uit pasgeboren pups en founders, steeg in de eerste vier decennia van het ras en schommelt nu tussen de 90 en 140 (figuur 6). Ondanks het hoge aantal Markiesjes dat werd gekozen, is het aantal pups dat werd geselecteerd voor de fokkerij over het algemeen niet meer dan 30 per jaar. Het geringe aantal, in combinatie met enkele tijdelijke terugvallen (bijvoorbeeld 2007), zullen aanzienlijke willekeurige drift veroorzaakt hebben.

Gebaseerd op de bekende overlijdensdata en de geschatte levensduur is het aantal momenteel levende individuen (in juni 2015) geschat op 1.219.

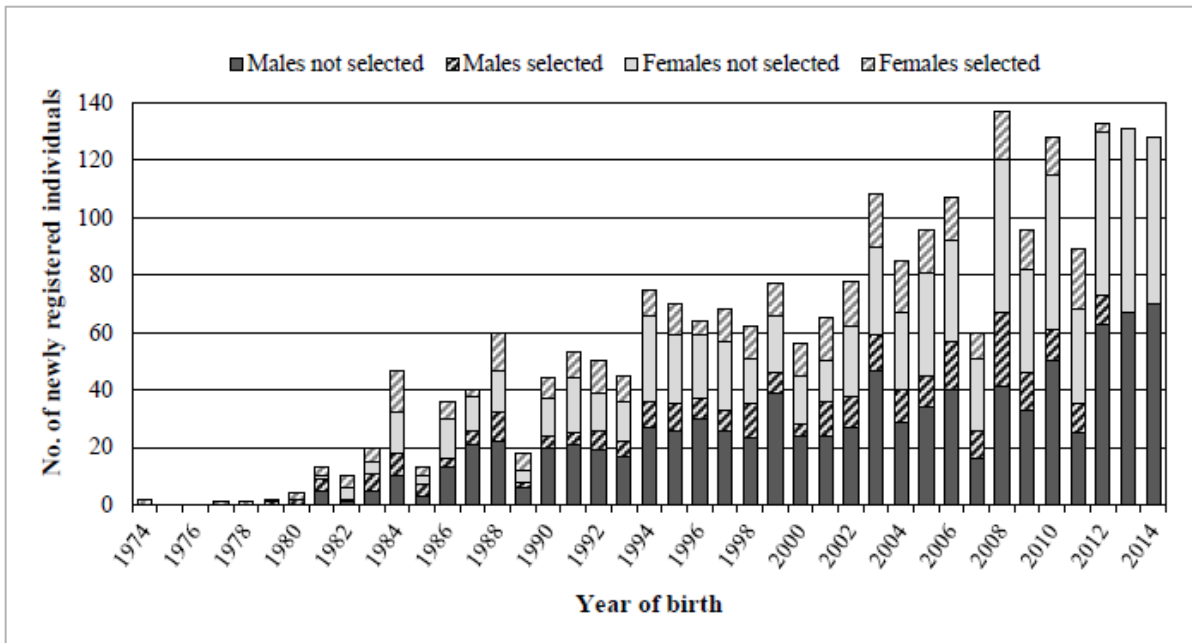


Figure 6. Number of newly registered Markiesjes per year of birth, comprising new-born pups and founders, that were either selected for breeding or not (yet)

De gemiddelde leeftijd van de ouders bij de geboorte van hun nageslacht nam toe in de loop der tijd, van 3,02 in 1983-1992 tot 3,75 y in 2010-2014 y. De generatie-interval steeg van 3,27 in 1983-1992 tot 3,72 y in 2008-2012. Een gemiddelde generatie-interval van 3.42 werd gevonden voor alle ouders geboren vóór 2002.

Het aantal (geselecteerde) nakomelingen per ouder bleef min of meer constant over de jaren, zowel teven als reuen (figuur 7). De schommelingen in de tijd werden grotendeels veroorzaakt door de natuurlijke variatie in de worpgrootte en het aantal nesten per ouder dat varieerde tussen de 1 en 4 nesten.

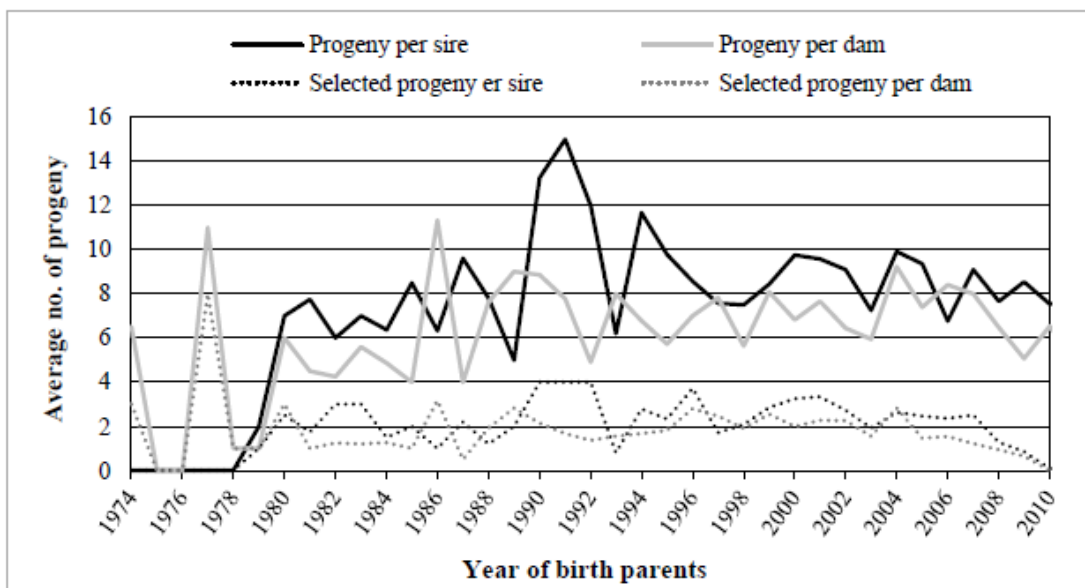


Figure 7. Average number of (selected) progeny per Markiesje-parent from 1974 to 2010

Worpgrootte en levensduur vertoonden geen trends door de tijd heen, afgezien van kleine fluctuaties rond het gemiddelde.

Compleetheid van het stamboek

Gedurende de ontwikkeling van het ras was er een gedurige toename in de compleetheid van het stamboek, zoals te zien is in figuur 8.

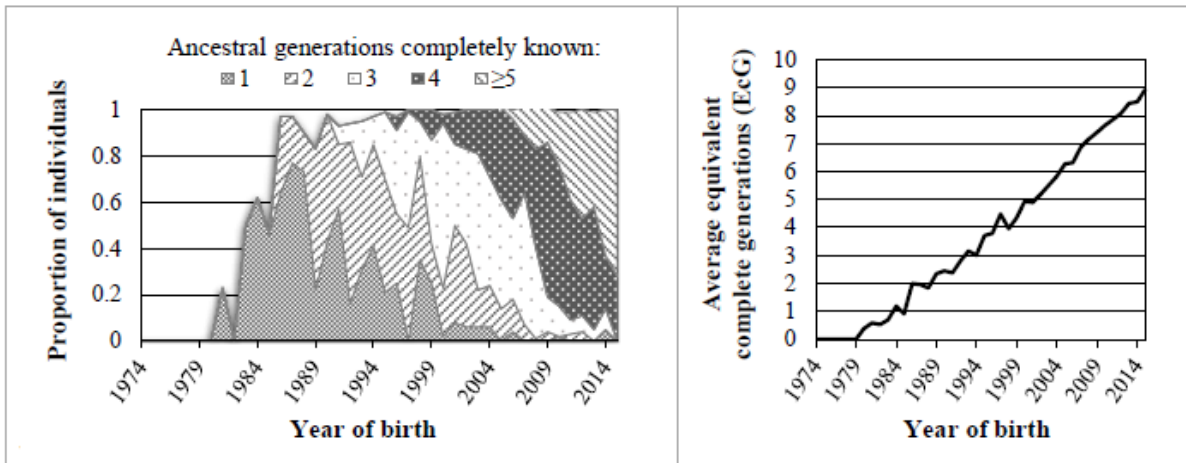


Figure 8. Pedigree completeness: proportion of Markiesjes with x ancestral generations completely known (left) and average equivalent complete generations (right) from 1974 to 2015

Van meer dan 90% van de Markiesjes geboren na 2012 zijn ten minste 4 volledige generaties bekend en van meer dan 70% van de Markiesjes geboren in 2015 zijn tenminste 5 volledige voorouderlijke generaties bekend. De gemiddelde equivalente van volledige bekende generaties (EcG) steeg van 0 bij de vorming van het ras tot bijna 9 in 2015.

De maximale langste voorouderlijke pad (LAP) in de dataset was 18 en meer dan 60% van de Markiesjes had LAP > 10. De verdeling van de val is opgenomen in bijlage I.

Inteelt en verwantschap

Een totaal van 1952 inteelde dieren werd geïdentificeerd. De stijging van het gemiddelde COI (F) en de gemiddelde verwantschap (f , waaronder self-relaties) door de tijd is weergegeven in figuur 9.

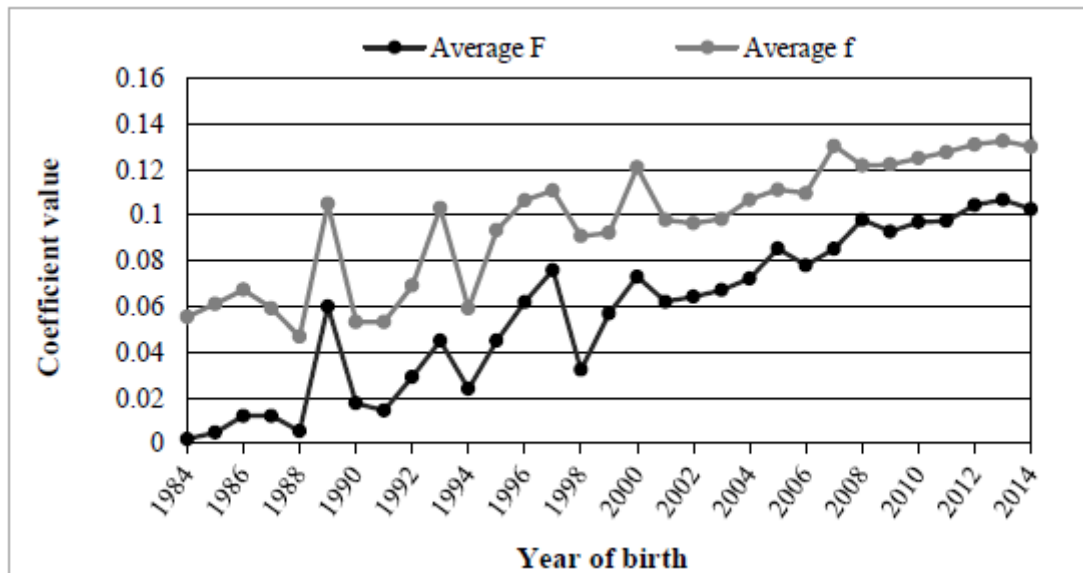


Figure 9. Average inbreeding (F) and average coancestry (f , including self-coancestry) in the population of Markiesjes from 1984 to 2014

Wanneer de fluctuaties genegeerd worden volgt F f met een interval van ongeveer 8 jaar. Deze interval is groter dan de generatie-interval (van 3,42), hetgeen een relatieve onderdrukking van de inteelt aangeeft. De inteelt en verwantschapsgraad waren echter ongeveer gelijk sinds 1988. De piek in F in 1989 kan worden verklaard door de geboorte van twee relatief hoog inteelde nesten in dat jaar

(met een COI van 0,08 en 0,125). De lage F in 1998 was grotendeels toe te schrijven aan drie nesten, dat een van de founders als ouder had en dus een COI van 0. Deze drie nesten beslaan ongeveer een derde van de pups, dat wil zeggen, 20 van de 63 pups, geboren in dit jaar.

Genetische diversiteit 1, inteelt / verwantschapsgraad en effectieve populatiegrootte

De huidige genetische diversiteit (GD) werd berekend als zijnde 87% van de aanvankelijke genetische diversiteit. Een inteelt percentage per generatie (ΔF_{gen}) van 1,27% werd gevonden voor 1984-2015, wat overeenkomt met een effectieve populatiegrootte op basis van een inteeltgraad (NeF) van 39,22. Deze waarden zijn gebaseerd op de helling van de logaritmische regressie in figuur 10.

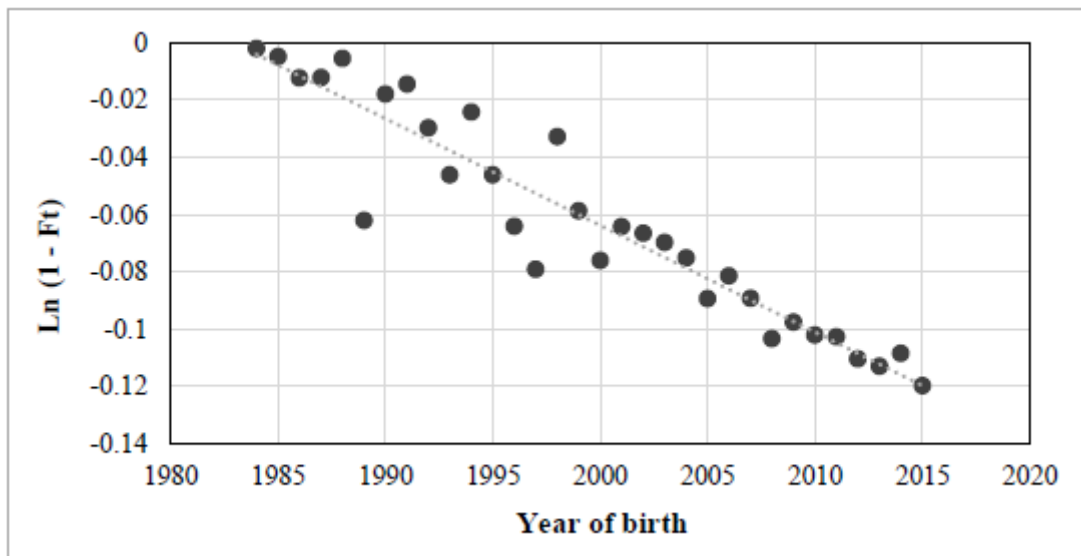


Figure 10. Logarithmic regression of $1 - \bar{F}$ against the year of birth for the period 1984-2015. The slope represents the increase in the average COI per year (ΔF)

De stijging van de COI per jaar en de geassocieerde NeF was vrij constant gedurende het bestaan van het ras. Om inzicht te krijgen in trends in de tijd, werden de ΔF_{gen} en NeF berekend en gevisualiseerd over een periode van vijf jaar (figuur 11). De grote waargenomen NeF over de periode 1996-2000 kan worden verklaard door het relatief hoge F in 1996 en 1997 en de uitschieter in 1998. Ondanks de daling van de ΔF_{gen} sinds 2001, valt het ras nog steeds in de hoogste risicocategorie van tabel 2 en wordt derhalve beschouwd als een onaanvaardbaar hoog risico hebbend op de accumulatie van erfelijke aandoeningen en misschien zelfs uitsterven van het ras.

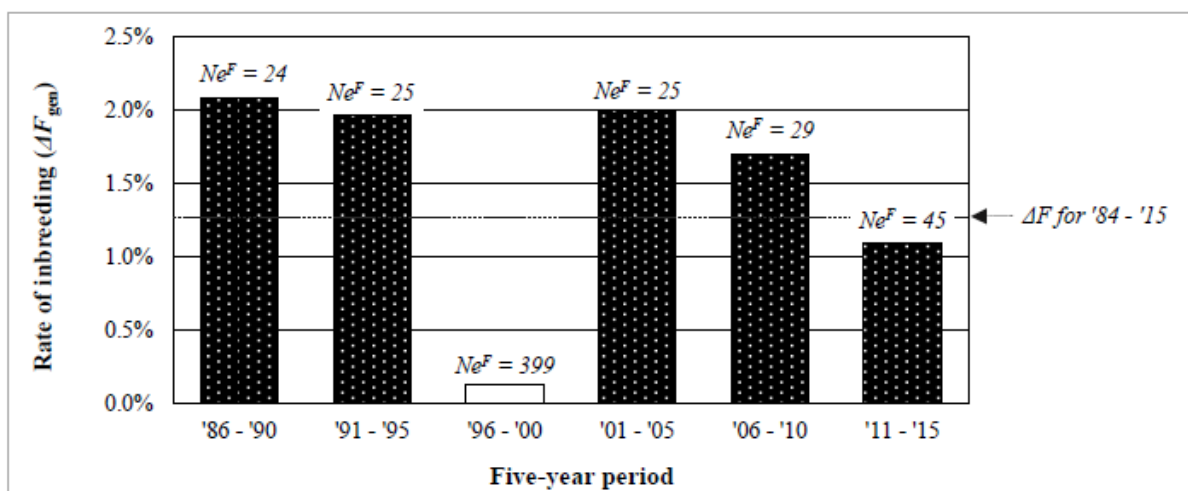


Figure 11. Rate of inbreeding (ΔF_{gen}) and inbreeding effective population size (NeF) in the Markiesje per five-year period from 1986 to 2015. Bars are filled according to the risk categories in table 2: black bars with white dots indicate an (unacceptably) high risk, with $\Delta F_{gen} > 1.0\%$, and empty white bars correspond to a (very) small risk, with $\Delta F_{gen} < 0.25\%$.

De verwantschap binnen de effectieve populatiegrootte (N_{ef}) over 1984-2015 was 47,61 en daarmee iets hoger dan de NeF . Het verschil tussen de N_{ef} en NeF was vooral te wijten aan het hoge basisniveau van \bar{f} , veroorzaakt door de opname van verwante dieren, en de niet-toenemende \bar{f} tussen 1984 en 1990. De N_{ef} schommelde meer in de tijd dan de NeF , maar bleef - met uitzondering van de eerste periode en de periode tussen 1996 en 2000 - onder de 58.

Genetische diversiteit 2: waarschijnlijkheid van herkomst van genen

In totaal werden 54 founders in de database gevonden ($ftot$). Van deze founders was 70,4% geboren vóór 1990 en 92,6% vóór 1997. Naast deze founders waren er 31 Markiesjes met alleen een geregistreerde moeder en 13 Markiesjes met alleen een geregistreerde vader; deze 44 semi-founders waren allen geboren vóór 1997.

Voor de referentiegroep, bestaande uit alle dieren geboren in 2010-2015, werd de waarschijnlijkheid van de genenoesprong werd berekend. De founder equivalent (fe) was 14,63, het equivalent van het founder genoom (fge) was 4,08 en het effectieve aantal niet-founders (fne) was 5,65. De verhouding $fe / ftot$ van 0,27 geeft een kleine tot matige afwijking van een gelijke bijdrage van de founders. Deze afwijking wordt verder toegelicht in tabel 9, waarin de tien founders met de hoogste bijdrage aan de genenpool (GP) van de referentiegroep worden weergegeven.

Het aandeel van de aanvankelijke genetische diversiteit die is verloren als gevolg van een ongelijke bijdragen van founders ($1-GD^*$) was 3,4%. De totale hoeveelheid verloren genen door zowel de selectie als de drift ($1-GD$) was 12,2%. Dit leidde tot een verlies van genetische diversiteit als gevolg van drift opgebouwd over niet-founder generaties van 8,8%. Een verlies van 0,88% per generatie werd geschat op basis van ~ 10 generaties die zijn verstreken sinds de founders leefden.

Table 9. The 10 founders with the highest contribution to the gene pool (GP) of Markiesjes born in 2010-2015 (n = 641)

Registration number	Name	Sex	Year of birth	Contribution to		
				GP*	\bar{F}^\dagger	\bar{f}^\dagger
100 GO GEEN VR	Pom	F	1977	0.170427	0.030980	0.034289
242 GO GEEN VR	Rasta	M	1985	0.138879	0.016425	0.019375
106 GO GEEN VR	Sonja	F	1974	0.062671	0.008773	0.010034
448 GO GEEN VR	Lotje	F	1988	0.055617	0.004189	0.005422
1145 G0 VR 2458830	Tosca	F	2000	0.048728	0.001208	0.002159
168 GO GEEN VR	Trixie	F	unknown	0.046561	0.006977	0.007920
343 GO GEEN VR	Wobbel	F	1984	0.046257	0.003510	0.004506
608 G0 GEEN VR	Hummeltje	F	1991	0.041034	0.002047	0.002958
371 G0 GEEN VR	Jody	F	1988	0.033971	0.001538	0.002089
796 GO GEEN VR	Jori	F	1994	0.025418	0.000696	0.001245

* The probability of gene origin, i.e. the fraction of genes in the group passed on by the founder.

† Contribution of genes of founders to the average COI and the average coancestry of the reference group, with $\bar{F} = 0.102558$ and $\bar{f} = 0.122608$ for the Markiesjes born in 2010-2015.

Uit tabel 9 kan worden afgeleid dat de kans dat een willekeurig gekozen gen uit een willekeurig gekozen persoon die geboren zijn na 2009 oorspronkelijk uit Pom of Rasta komt meer is dan 30%. De genen van deze twee founders tezamen zijn verantwoordelijk voor 0,047 (46%) van de gemiddelde COI en 0,054 (44%) van de gemiddelde verwantschap. De genen van de top 5 founders droegen respectievelijk 47,6%, 60,0% en 58,1% bij aan de GP, de gemiddelde COI en de gemiddelde verwantschap. Er waren 21 founders (39%) zonder bijdrage aan de huidige GP. De 44 semi-founders droegen 14,2% bij aan de huidige GP.

3.2. Analyse van erfelijke aandoeningen

De resultaten van de patella luxatie, progressieve rod-cone degeneratie en de Neuropathologie worden hieronder weergegeven. Andere erfelijke aandoeningen die gevonden werden in het ras zoals epilepsie en cataract werden niet geanalyseerd, aangezien slechts enkele Markiesjes getroffen werden door deze aandoeningen.

Patella luxatie (PL)

Een totaal van 644 Markiesjes werd onderzocht op de aanwezigheid van PL door dierenartsen, volgens het Meutstege-protocol. Al deze dieren werden geboren na 1984 en 67,4% werd geboren na 2006, toen de gezondheidsscreening van potentiële fokdieren op PL verplicht werd gesteld. De totale prevalentie van PL, van graad 1 tot 4 gecombineerd, was 21,74% in de gescreende dieren (tabel 10). Geen duidelijke selectie-effect was zichtbaar; de prevalentie in alle gescreende dieren geboren voor 2006 was 23,0%, de prevalentie in de periode 2007-2009 was 16,4% en in Markiesjes geboren na 2009 was het 24,0%. De prevalentie van graad 2 tot 4, die alleen de Markiesjes bevat met spontane luxatie, was 3,73%.

Teven werden iets vaker gescreend dan reuen, dat wil zeggen, 29,9% versus 25,7% van het totaal. De prevalentie was hoger voor vrouwen dan voor mannen voor PL; een vrouwelijke : mannelijk RR van 1,365 (CI95: 1,009-1,845) voor graad 1-4 werd gevonden.

Table 10. PL status of 644 examined Markiesjes born between 1984-2014

PL status	Males		Females		Total	
	n	%	n	%	n	%
Grade I	48	15.89	68	19.88	116	18.01
Grade II	6	1.99	15	4.39	21	3.26
Grade III	1	0.33	1	0.29	2	0.31
Grade IV	0	0	1	0.29	1	0.16
Unaffected	247	81.79	257	75.15	504	78.26
<i>Total</i>	<i>302</i>	<i>100</i>	<i>342</i>	<i>100</i>	<i>644</i>	<i>100</i>

Voor 57 van de aangedane dieren kon worden vastgesteld of een of beide kniegewrichten was aangedaan. Van deze dieren (74%) had 42 stuks PL in beide knieën. Van 39 kniegewrichten kon de luxatierichting worden bepaald; 11 (28%) mediaal, 16 (41%) lateraal en 12 (31%) bidirectioneel.

Progressieve rod-cone degeneratie - Progressieve Retina Atrofie (PRA-PRCD)

Er waren 303 Markiesjes een geregistreerde status van zowel de DNA-test als het ECVO PRCD-oogonderzoek, 208 met alleen de DNA-testresultaat en 64 dieren met alleen het ECVO resultaat. De resultaten van beide proeven worden in tabel 11 en 12 weergegeven.

Table 11. Observed genotype of Markiesjes with PRCD DNA-test and expected genotypes under HWE

PRCD genotype	n _{observed}	% _{observed}	n _{expected}
Homozygous normal	399	78.08	399
Heterozygous/carrier	105	20.55	105
Homozygous mutant	7	1.37	7
<i>Total</i>	<i>511</i>	<i>100.00</i>	<i>511</i>

Table 12. PRCD status of Markiesjes with ECVO eye-examination

PRCD status	n	%
Affected	8	2.13
Provisionally not clear	2	0.53
Clear	366	97.34
<i>Total</i>	<i>376</i>	<i>100.00</i>

In de groep die de DNA-test had ondergaan was de prevalentie 1,37%, de frequentie van het normale allel (p) was 0,88 en de frequentie van het mutante allel (q) was 0,12. Dit leidde tot een verwacht aantal dieren per allelfrequentie onder het Hardy-Weinberg-evenwicht (HWE) dat exact gelijk werd

afgerond aan het waargenomen aantal individuen (tabel 11). Aangezien de Goodness-of-Fit statistisch χ^2 test en de p-waarde respectievelijk 0 en 1 benadert was de groep die aan de DNA-test onderworpen was HWE, hetgeen wijst geen selectie. Als we echter kijken naar de mutante allel frequentie in de tijd, was de door de rasvereniging toegepast selectie effectief: q daalde van 0,17 in 2006-2009 (n = 103) tot 0,10 in 2010-2014 (n = 364).

De prevalentie van de Markiesjes die het ECVO-onderzoek ondergingen was 2,13% en daarmee iets hoger dan in de DNA-testgroep. Er is geen geslachtsvoorkeur gevonden voor PRCD.

Neuropathologie

Een totaal van 11 Markiesjes werd geregistreerd als lijder aan neuropathologie. Deze dieren waren verdeeld over 6 nesten en werden allen geboren in 2003-2013. Een overzicht van de 6 getroffen nesten wordt getoond in onderstaande tabel.

Table 13. Overview of litters with Markiesjes affected by neuropathology, showing the number of (affected) pups, the litter's F compared to the \bar{F} of the year of birth and the number of (nodal common) ancestors

Litter	Date of birth	Sire ID	Dam ID	No. pups		F_{litter}	$\bar{F}_{\text{year of birth}}$	No. ancestors	
				Affected	Total			NCA*	Total
A	09-01-2003	1119 G3	1085 G2	3	6	0.0805	0.0673	29	62
B	07-03-2006	1228 G3	1120 G3	3	5	0.0827	0.0781	42	78
C	04-10-2008	1628 G4	1480 G3	1	5	0.0786	0.0981	46	102
D	29-10-2010	1762 G5	1490 G4	1	4	0.1082	0.0970	61	121
E	07-02-2012	1923 G3	1701 G4	1	5	0.1288	0.1045	89	130
F	12-11-2013	1902 G4	1738 G5	2	6	0.1158	0.1068	78	160

* Nodal common ancestors are ancestors that occur both in the paternal and maternal line of an individual's pedigree. They are the ancestors on which the individual/litter is inbred.

De COI van de getroffen nesten was hoger dan het gemiddelde van alle Markiesjes geboren in hetzelfde jaar, met uitzondering van nest C. Dit geeft aan dat de manifestatie van de aandoening het gevolg van inteelt zou kunnen zijn. Deze observatie kan echter ook aan toeval te wijten zijn. Ongeveer 3 (11/31) van de 6 pups in het nest werden getroffen, hetgeen hoger is dan de verwachte verhouding van 0,25 voor een monogene autosomaal recessieve aandoening. De waargenomen hoeveelheid verschilde echter niet significant van 0,25 ($P = 0,128$; 1-zijdig binomiale test).

Onder de aanname dat de Neuropathologie een monogene autosomaal recessieve aandoening is, werd de mutante allel frequentie voor alle dieren geboren na 2003 geschat op 9% ($q = 0,090$). Onder HWE zou dit een heterozygote frequentie (2 PQ) van 0,17 geven, wat overeenkomt met een totaal van 218 dragers die zijn geboren na 2002. Als de getroffen dieren en hun broers en zussen en ouders zouden worden uitgesloten van de fokkerij, zal het feitelijke aantal dragers naar verwachting lager zijn dan 218.

Er werden gedeeltelijke inteeltcoëfficiënten van de NCAs berekend om inzicht te krijgen in de potentiële dragers en de mogelijke herkomst van het mutante allel (nog steeds uitgaande van een monogenische autosomaal recessieve aandoening). De NCAs met een relatief hoge bijdrage aan het COI van de getroffen dieren zijn weergegeven in tabel 14. De bijdrage van de NCAs in deze tabel wordt gemiddeld over de 6 getroffen nesten. In bijlage 2 een soortgelijke tabel (tabel 2) is opgenomen, waarin de invloedrijke NCAs worden aangegeven per getroffen nest. Ervan uitgaande dat de wijze van overerving autosomaal recessief is, zijn de NCAs met een hoge verhouding tussen hun bijdrage aan het COI van de getroffen nest ($F_{ij.litter}$) en hun bijdrage aan de gemiddelde COI van de referentie van de referentiepopulatie ($F_{ij.ref}$) potentiële dragers van het gemuteerde allel. Voorbeelden hiervan zijn de NCAs 713 G3 van nest B, 1198 G3 van nest E en 1088 G3 van nest F.

Table 14. Nodal common ancestors (NCAs) of affected litters with a difference between the litters' average partial inbreeding coefficient ($\bar{F}_{ij.lit}$) and the average partial inbreeding coefficient of the reference population ($\bar{F}_{ij.ref}$) of more than 0.001 and/or a $\bar{F}_{ij.litters}$ that is more than 2 times the $\bar{F}_{ij.ref}$. The j in F_{ij} represents the NCA and the i the inbred individual/litter. The reference population consists of all unaffected individuals born since 2003, excluding litter mates of affected individuals ($n = 1299$).

NCA ID	$\bar{F}_{ij.lit}$	$\bar{F}_{ij.ref}$	$\bar{F}_{ij.lit} - \bar{F}_{ij.ref}$	$\bar{F}_{ij.lit} / \bar{F}_{ij.ref}$
713 G3	0.004261	0.000246	0.004016	17.35
1088 G3	0.002841	0	0.002841	x
348 G1	0.006471	0.004555	0.001916	1.42
242 GO	0.008329	0.006493	0.001836	1.28
415 G2	0.002806	0.001309	0.001498	2.14
1198 G3	0.001420	0.000232	0.001189	6.13
108 G0	5.93E-05	1.49E-06	5.78E-05	39.81
730 G3	0.000355	7.74E-05	0.000278	4.59
701 G2	0.000355	7.83E-05	0.000277	4.54
594 G2	0.000355	8.85E-05	0.000267	4.01
390 G2	0.001347	0.000577	0.000770	2.33

De bijdrage van foundergenen aan de genenpool, het gemiddelde COI en de gemiddelde verwantschap van de getroffen nesten werd ook vergeleken met de bijdrage van deze founders aan de referentiegroep. Het resultaat van deze vergelijking wordt gegeven in tabel 3 in bijlage 2. Als de wijze van overerving inderdaad autosomaal recessief is, kan een van de founders in deze tabel (bv 796 GO, GO GO 168 of 106) het mutante allel in de populatie hebben ingevoerd.

3.3. Simulatie van het fokbeleid

De in de stamboomanalyse verkregen resultaten werden gebruikt als input voor het simulatieprogramma. De input die werd gebruikt voor de basissimulatie is opgenomen in bijlage 4. Hieronder worden de resultaten van de simulaties van verschillende strategieën – beperken van dekruen, sturen op verwantschap en het uitbreiden van de populatiegrootte - gepresenteerd. De invloed van de selectie tegen monogene aandoeningen aan de inteeltgraad is ook geëvalueerd.

Reu beperkingen fokkerij

Verschillende combinaties van levensgebaseerd en jaargebaseerde dekrebepkeringen werden gesimuleerd. Het effect van deze beperkingen op inteelttoename per generatie en de generatie interval (als het gemiddelde van 25 simulatieruns) wordt getoond in respectievelijk Tabel 15A en 15B.

Table 15A. Effect of restricting the use of sires per year and life on the mean $\Delta\bar{F}_{gen}$ (in %) of 25 simulated populations of Markiesjes*

Max no. of litters / year	Max no. of litters / life:				
	No	20	10	5	2
No	0.96	-	-	-	-
20	0.96	0.96	-	-	-
10	0.96	0.96	0.94	-	-
5	0.96	0.96	0.94	0.91	-
2	0.93	0.93	0.93	0.89	0.74

*Dams were restricted to maximal 5 litters per life

Table 15B. Effect of restricting the use of sires per year and life on the mean generation interval (in years) of 25 simulated populations of Markiesjes*

Max no. of litters / year	Max no. of litters / life:				
	No	20	10	5	2
No	2.94	-	-	-	-
20	2.94	2.94	-	-	-
10	2.94	2.94	2.93	-	-
5	2.94	2.94	2.93	2.90	-
2	2.95	2.95	2.94	2.92	2.80

*Dams were restricted to maximal 5 litters per life

De inteeltgraad in de simulatie was lager dan, maar dicht bij het waargenomen inteeltpercentage in het ras (dit was 1,1% in de afgelopen vijf jaar). De inteeltgraad bleef redelijk vergelijkbaar bij de verschillende beperkingen en toonde slechts een lichte daling bij de toepassing van zeer strikte fokbeperkingen. Het beperkte effect van de fokbeperking kan worden verklaard door de afwezigheid van een “popular sire effect” in de simulatie/ras. De huidige fokbeperking, door de Markiesjes rasvereniging toegepast, te weten maximaal 5 nesten per vader, leidt tot een van de laagste inteeltgetallen in tabel 15A. Strikte levensgebaseerde beperkingen, van ≤ 10 nesten per vader per leven, verlaagde de generatie-interval, zoals weergegeven in tabel 15B.

Sturen op verwantschap met een fokprogramma

Drie fokprogramma's die zijn gebaseerd op verwantschap werden gesimuleerd: een minimum verwantschapsparing, het minimaliseren van de populatieverwantschap door die dieren uit de fokkerij uit te sluiten die een hoger dan gemiddelde verwantschap hebben en het gebruik van optimale bijdrage. De effectiviteit van deze methoden voor het reduceren van de inteelttoename werd vergeleken in de simulatie, zowel met als zonder de beperking van 5 nesten per reu per leven (tabel 16).

Table 16. Effect of various mating programs on the mean $\Delta\bar{F}_{gen}$ (in %) and mean generation interval in the 25 simulated populations of Markiesjes (100 years each), both with and without breeding restriction

Breeding restriction	Mating program	$\Delta\bar{F}_{gen}$			Generation interval
		Overall	Year 0-20	Year 20-100	
None	None	0.95	0.97	0.95	2.96
	Min. coancestry mating	1.16	0.36	1.23	3.53
	Min. population coancestry	0.58	0.60	0.57	3.31
	Optimal contributions	1.12	0.87	1.20	3.22
Max. 5 litters per sire per life	None	0.91	0.88	0.91	2.89
	Min. coancestry mating	0.75	0.38	0.77	3.24
	Min. population coancestry	0.56	0.59	0.56	3.27
	Optimal contributions	0.77	0.66	0.78	3.61

Lage verwantschapsparing bleek vooral effectief op de korte termijn. Het combineren van deze methode met een fokbeperking vergroot de effectiviteit ervan op de langere termijn. Het totale effect was echter nog aanzienlijk kleiner dan dat van het minimaliseren van de verwantschaps-populatie; dit bleek de meest effectieve gesimuleerde strategie. Dit fokprogramma verminderde de inteeltgraad per generatie over de 100 gesimuleerd jaren met meer dan 0,35%, zowel met als zonder fokbeperking. Het effect van het gebruik van de optimale bijdrage was onverwacht laag. Zonder een fokprogramma met een beperkingsmethode dit resulteerde dit fokprogramma in een percentage dat zelfs hoger is dan het percentage dat werd gevonden zonder gebruik van een fokprogramma.

Het vergroten van de omvang fokpopulatie

Het effect van het vergroten van de populatiegrootte op de inteeltgraad in de Markiesjes wordt weergegeven in tabel 17. Het verhogen van het aantal fokdieren bleek het inteeltpercentage aanzienlijk te verlagen. Het vergroten van de fokpopulatie met 1,25 keer (dwz 8 extra reuen en 14 extra teven per jaar) bijvoorbeeld verlaagde de inteeltgraad in de gesimuleerde populatie met 0,19%. Het vergroten van de omvang van de bevolking maal 1,5 en leidde tot een daling van 0,32% in $\Delta\bar{F}_{gen}$ en was daarmee bijna net zo effectief is als het minimaliseren van de populatieverwantschap. De daling in $\Delta\bar{F}_{gen}$ per extra fokdier was groter wanneer de fokpopulatie met een relatief kleine factor werd vergroot, zoals bleek uit de daling van 0,19%, 0,32% en 0,46% voor respectievelijk 1,25, 1,5 of 2 maal vergroting (waarbij 22, 36, 55 of 89 dieren werden toegevoegd) van de populatie. In absolute aantallen

was het toevoegen van fokteven effectiever dan de toevoeging van dekreuen; 28 extra teven (+ 50%) resulteerde in een daling van 0,20%, terwijl het toevoegen van 33 reuen(+ 100%) de inteeltgraad met 0,26% deed dalen.

Table 17. Effect of increasing the number of available breeding males and females per year on the mean ΔF_{gen} (in %) of 25 simulated populations of Markiesjes

Males available for breeding	Females available for breeding						
	n = 56 (baseline*)	n = 59 (+5%)	n = 62 (+10%)	n = 70 (+25%)	n = 84 (+50%)	n = 98 (+75%)	n = 112 (+100%)
n = 33 (baseline*)	0.91	0.89	0.84	0.78	0.71	0.62	0.55
n = 35 (+5%)	0.88	0.87	0.80	0.75	0.67	0.61	0.55
n = 36 (+10%)	0.89	0.88	0.81	0.76	0.64	0.59	0.54
n = 41 (+25%)	0.85	0.85	0.79	0.72	0.65	0.58	0.52
n = 50 (+50%)	0.80	0.79	0.78	0.70	0.59	0.54	0.51
n = 58 (+75%)	0.78	0.76	0.72	0.66	0.52	0.52	0.46
n = 66 (+100%)	0.75	0.72	0.68	0.62	0.55	0.51	0.45

* The estimated number of yearly available breeding individuals for the period 2010-2014

Er werd geen duidelijk effect gevonden op de generatie-interval door het vergroten van de fokpopulatie.

Selecteren tegen monogene erfelijke afwijkingen

Het effect van verschillende types selectie tegen PRCD wordt weergegeven in tabel 18. Selectie tegen deze afwijking had nauwelijks invloed op de inteeltgraad en gemiddelde COI over 50 jaar. De inteeltgraad was in de eerste (vijf) jaar echter licht gestegen met strengere selectie. Dit verschil was echter verwaarloosbaar vergeleken met het verschil in \bar{F} over 50 jaar.

Table 18. Effect of different types of selection against PRCD on the mean $\Delta \bar{F}_{gen}$ and the mean mutant allele frequency (with an initial q of 0.116) in 25 simulated populations of Markiesjes

Selection against	\bar{F} at 50y (in %)	$\Delta \bar{F}_{gen}$ (in %)		Mean fixation y in fixed runs (n)	Mean q at 50y in non-fixed runs (n)
		0-5y	6-50y		
none of the individuals	14.30	0.79	0.94	27 (7)	0.154 (18)
homozygotes	14.27	0.62	0.90	29 (9)	0.070 (16)
homozygotes and ♂ heterozygotes	14.09	0.82	0.91	14 (50)	NA (0)
homozygotes and ♀ heterozygotes	13.85	0.95	0.91	8 (50)	NA (0)
homozygotes and all heterozygotes	13.98	0.89	0.92	1 (50)	NA (0)

Complete selectie tegen zowel heterozygoten als homozygoten leidde logischerwijs tot fixatie in de simulaties in het eerste jaar. Selectie tegen vrouwelijke heterozygoten naast selectie tegen alle homozygoten, bleek effectiever dan selectie tegen heterozygoten reuen, dit doordat het gemiddelde aantal jaren tot fixatie lager was.

De gesimuleerde selectie tegen Neuropathologie (initieel h van 0,090 en uitgaande van een monogene aandoening) vertoonde geen effect op de inteelttoename. Het gemiddelde aantal jaren fixatie was, net als bij het selecteren tegen PRCD, hoger bij het selecteren tegen mannelijke heterozygoten (12 jaar) dan bij het selecteren tegen vrouwelijke heterozygoten (8 jaar).

4. Resultaten Stabijhoun

In dit hoofdstuk worden de resultaten van de stamboekanalyse, van de erfelijke aandoeningen en die van de analyse van de simulatie van de fokkerijstrategieën van de Stabijhoun gepresenteerd.

4.1. stamboom onderzoek

Eén teef is later dan haar nakomelingen geboren. Deze teef werd uitgesloten van analyses op jaarbasis. Er waren geen dubbele vermeldingen noch tweeslachtige dieren.

Algemene parameters populatie

In tabel 19 zijn de parameters voor de algemene Stabijhounpopulatie in de dataset samengevat. De standaarddeviatie en het bereik is samengevat om de (grote) spreiding in de grenzen van de parameterwaarden te tonen. De mediaan is opgenomen om de scheefheid van de verspreiding van de parameter aan te geven. Grafieken van de verspreidingen zijn opgenomen in bijlage 3.

Table 19. General population parameters Stabyhoun

Parameter	Mean \pm std.	Median	Range (min. - max.)	n
Life span (in years)	12.17 \pm 3.16	12.84	0.34 – 18.68	346*
Litter size	6.32 \pm 2.40	7	1 – 13	2634 [□]
Age (in years) of:				
- sires at birth progeny	4.91 \pm 2.34	4.45	0.81 – 14.84	16649 [†]
- dams at birth progeny	4.14 \pm 1.71	3.85	0.81 – 14.59	16643 [†]
- sires at birth selected progeny	4.77 \pm 2.36	4.29	0.82 – 12.05	1819 [‡]
- dams at birth selected progeny	4.06 \pm 1.76	3.73	0.81 – 10.85	1816 [‡]
Number of:				
- progeny per sire	32.32 \pm 40.30	17	1 – 392	432 [•]
- progeny per dam	13.80 \pm 9.76	11	1 – 78	1001 [•]
- selected progeny per sire	4.34 \pm 6.97	2	0 – 58	331 [◦]
- selected progeny per dam	1.71 \pm 1.97	1	0 – 10	795 [◦]

*Individuals born in 1960-1997 with a known date of birth and known date of decease.

[□] Unique litters with known date of birth and known sire and dam.

[†] Progeny with known date of birth and known date of birth of sire/dam.

[‡] Selected progeny with known date of birth and known date of birth of sire/dam.

[•] Sires/dams born before 2007 (ensuring that on average a parent has had >95% of its progeny).

[◦] Sires/dams born before 2002 (ensuring that on average an individuals' progeny has reached the age on which >95% of selected progeny has become parent).

Er was geen significant geslachtsverschil in gemiddelde levensduur ($P = 0,156$). Reuen waren gemiddeld ouder bij de geboorte van hun nageslacht dan teven ($P = 0,000$). Reuen werden minder vaak dan teven geselecteerd voor de fokkerij: 7,8% van de mannen en 17,6% van de vrouwen geboren vóór 2007 werd geselecteerd (zie ook figuur 12). Dit grote geslachtsverschil was, zoals verwacht, ook in het aantal nakomelingen zichtbaar: reuen had nakomelingen in totaal 32,32 nageslacht en 4,34 geselecteerd nageslacht, terwijl teven gemiddeld 13,80 nageslacht in totaal hadden en 1,71 geselecteerde nageslacht ($P = 0,000$ voor beide).

Het aantal nieuw geregistreerde Stabijhounen per jaar, dat wil zeggen pasgeboren pups en founders, steeg van ongeveer 50 in 1960 tot 300 in 1977 (Figuur 12). Stabijhounen vóór 1960 werden er minder dan 10 per jaar geregistreerd. In 1978 daalde het aantal en schommelde gedurende twee decennia rond 200, waarna het verder toenam. Sinds 2010 schommelt het aantal geboren pups rond de 700.

Gebaseerd op de gekende overlijdensdata en de gemiddelde levensduur is het aantal levende dieren (in augustus 2015) geschat rond 6959.

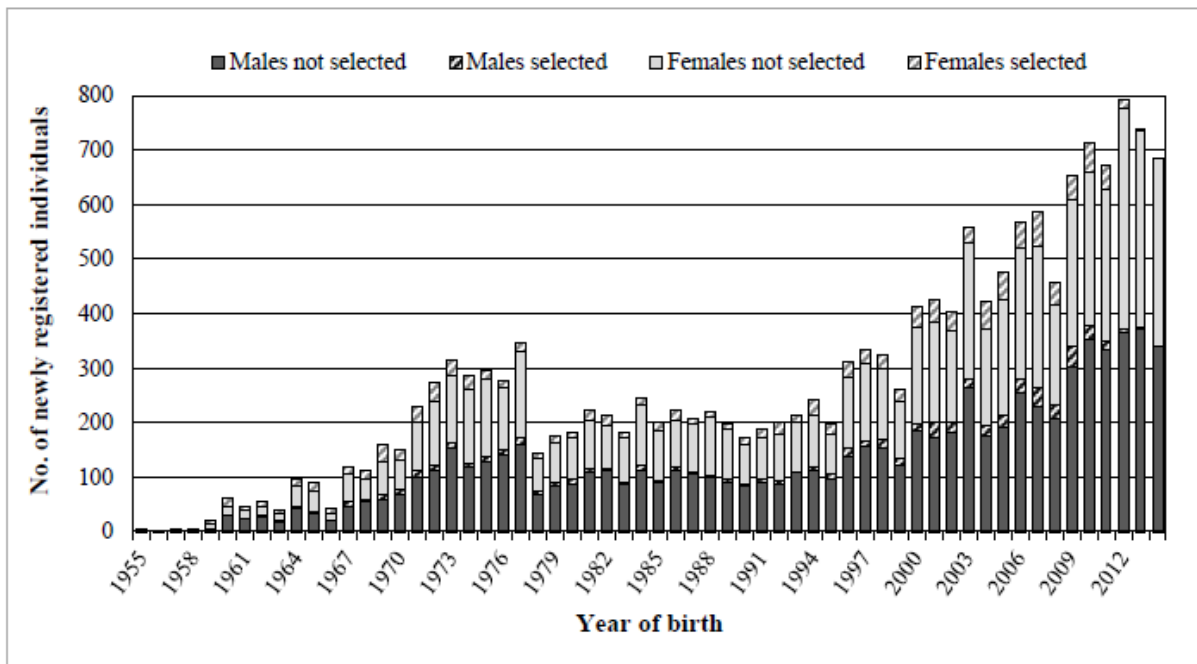


Figure 12. Number of newly registered Stabyhouns per year of birth, comprising new-born pups and founders, that were either selected for breeding or not (yet)

De gemiddelde leeftijd van de ouders bij de geboorte van hun nageslacht nam gedurende de jaren toe van 3,77 jaar in 1965-1974 tot 4,52 jaar in 2010-2014. De generatie-interval nam toe van 3,78 in 1965-1974 tot 4,53 in 2005-2009. Voor alle ouderdieren geboren voor 2002 werd een gemiddelde generatie-interval gevonden van 4,42.

Het aantal (geselecteerde) nakomelingen per teef bleef min of meer constant over de jaren, terwijl het aantal (geselecteerde) nakomelingen per vader sterk fluctueerde (figuur 13). De hoge pieken in de grafiek zijn door het gebruik van een beperkt aantal reuen en een overmatig gebruik van enkele populaire reuen. De enige twee pieken in 1954 en 1958 waren het gevolg van de reuen geboren in die jaren, die respectievelijk 58 en 123 nakomelingen hadden. De belangrijkste pieken in 1963, 1965,

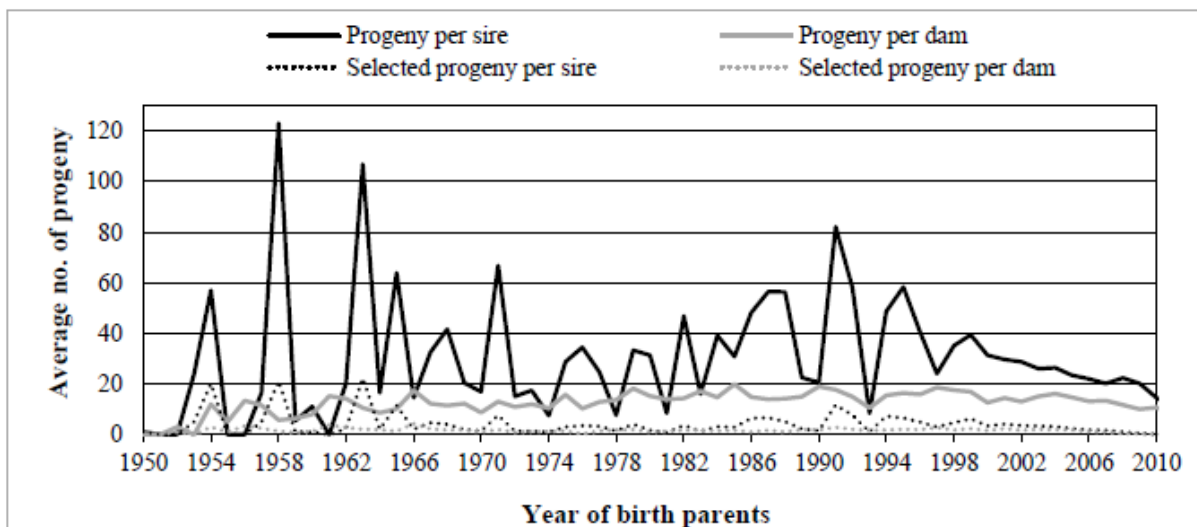


Figure 13. Average number of (selected) progeny per Stabyhoun-parent from 1950 to 2010

1971 en 1991 waren gebaseerd op respectievelijk 5, 5, 13 en 6 reuen. In deze jaren waren er vele populaire reuen met meer dan 100 nakomelingen en meer dan 25 geselecteerde nakomelingen. Een reu, genaamd Kast Fen 't Houneheim en geboren in 1971, was zeer populair met een totaal van 392 nakomelingen en 58 geselecteerde nakomelingen. Het waargenomen “popular sire effect” was nog steeds aanwezig in de laatste decennia, hoewel minder extreem. In 2010-2014 waren er gemiddeld 73 dekreuen per jaar terwijl er 5 populaire reuen verantwoordelijk waren voor 11% van alle pups in deze periode.

Worpgrootte en de levensduur toonden geen specifieke trend door de jaren heen, afgezien van kleine fluctuaties rond het gemiddelde.

Volledigheid stamboek

Tijdens de eerste twee decennia werden alleen founders en hun nageslacht geregistreerd, wat de eerste pieken in figuur 14 verklaart (links). Sinds 1958 is de volledigheid van het stamboek samen met de groei van het ras toegenomen en sinds 1994 zijn van alle geregistreerde Stabijhounen de voorouders volledig bekend over ≥ 5 voorouderlijke generaties. De EcG schommelde in de eerste decennia en daarna is gestaag toegenomen tot bijna 15 in 2015.

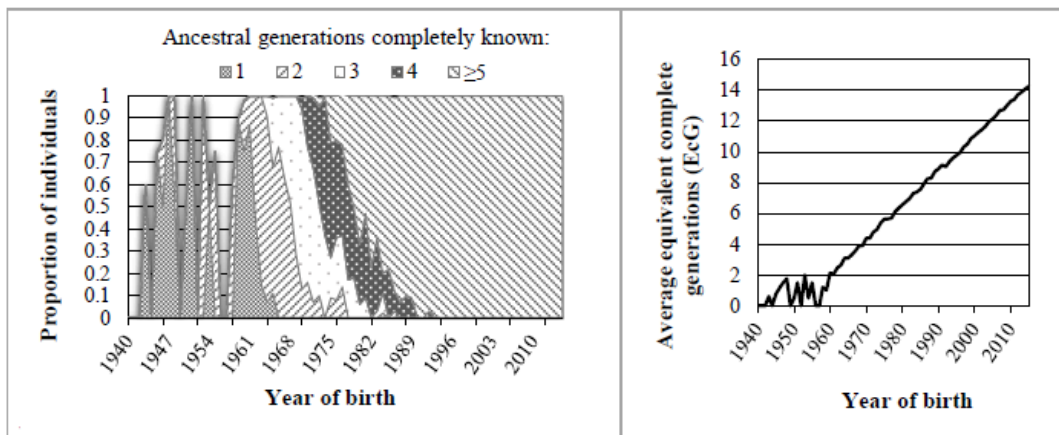


Figure 14. Pedigree completeness: proportion of Stabijhounen with x ancestral generations completely known (left) and average equivalent complete generations (right) from 1940 to 2015

Het langste voorouderlijke pad (LAP) was 24 en meer dan 76% van de Stabijhounen had een LAP > 10. De verdeling van LAPs is opgenomen in bijlage 3.

Inteelt en verwantschap

Een totaal van 16.404 inteelde Stabijhounen werden geïdentificeerd in het stamboek. De stijging van het gemiddelde COI (\bar{F}) en de gemiddelde verwantschap (\bar{f} , waaronder self-verhoudingen) door de jaren heen wordt weergegeven in figuur 15.

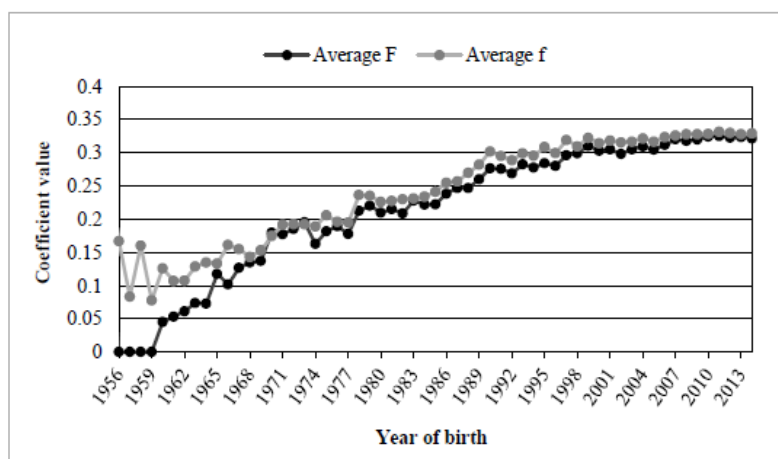


Figure 15. Average inbreeding (\bar{F}) and average coancestry (\bar{f} , including self-relationships) in the Stabijhoun population from 1956 to 2014

De grootte van de interval tussen \bar{F} en \bar{f} daalde in de eerste decennia van het ras. Sinds 1968 is deze interval 2-3 jaar, die kleiner is dan de gemiddelde generatie interval van 4,42 jaren. Om de invloed van de verdeling van de internationale populatie op de relatief lage verwantschap te verkennen, de werd de verwantschap per land vergeleken met die van de totale verwantschap (tabel 20).

Table 20. Average inbreeding (\bar{F}) and average coancestry (\bar{f}) in the largest subpopulations of Stabyhouns in 2005-2015

Country	No. individuals	\bar{F}	\bar{f}	Year of birth first registered individual
The Netherlands	4579	0.3203	0.3259	1940
Sweden	724	0.3189	0.3369	1991
Finland	322	0.3233	0.3424	1990
Denmark	547	0.3183	0.3394	1994
Norway	65	0.2955	0.3454	1998
United States of America	220	0.3231	0.3408	1994
<i>Overall</i>	<i>6505</i>	<i>0.3199</i>	<i>0.3253</i>	-

Binnen de internationale subpopulaties was \bar{f} 1-2% hoger dan de totale \bar{f} , hetgeen wijst op een slechts klein effect van populatieverdeling.

Genetische diversiteit 1, inteeltgraad en effectieve populatiegrootte

De huidige genendiversiteit (GD) wordt geschat op 67% van de aanvankelijke GD. Een gemiddeld inteeltpercentage per generatie (ΔF_{gen}) van 2,96% werd gevonden voor de periode 1956 tot 2015, wat overeenkomt met een effectieve populatiegrootte op basis van dit percentage (NeF) van 16,91 (figuur 16).

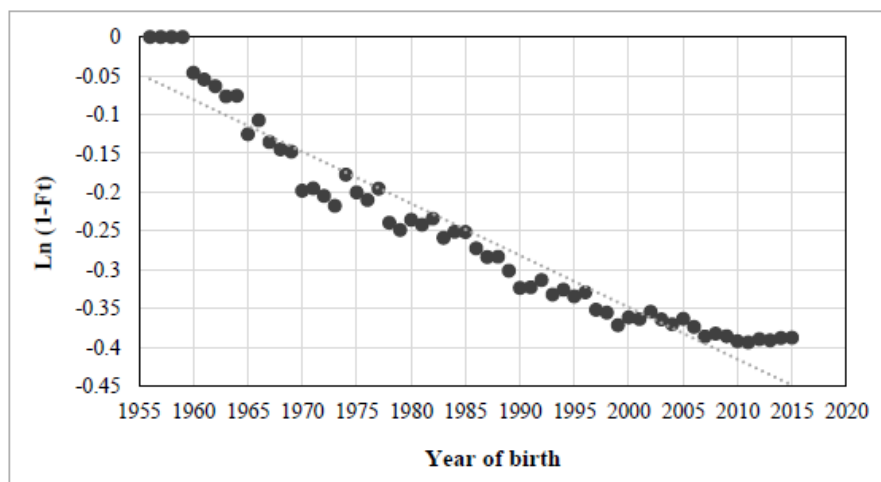


Figure 16. Logarithmic regression of $1 - \bar{F}_x$ against the year of birth of Stabyhouns for the period 1956-2015. The slope represents the increase in the average COI per year ($\Delta \bar{F}$)

De dalende lijn - in plaats van lineair - in figuur 16 duidt op een afname van $\Delta \bar{F}$ door de tijd heen. Deze $\Delta \bar{F}$ daling door de tijd wordt verder zichtbaar in figuur 17. Met name in eerste 10 jaar van het ras was de $\Delta \bar{F}_{gen}$ zeer groot, met waarden van meer dan 4%. Ondanks de gestage daling van de $\Delta \bar{F}_{gen}$, is de populatie in de hoogste risicocategorie van tabel 2 gebleven gedurende meer dan een halve eeuw. Rond 2000 kwam de $\Delta \bar{F}_{gen}$ onder de drempel van 1%. In de periode 2010-2015 was de $\Delta \bar{F}_{gen}$ zelfs negatief en de NeF voor deze periode kan dus niet worden berekend.

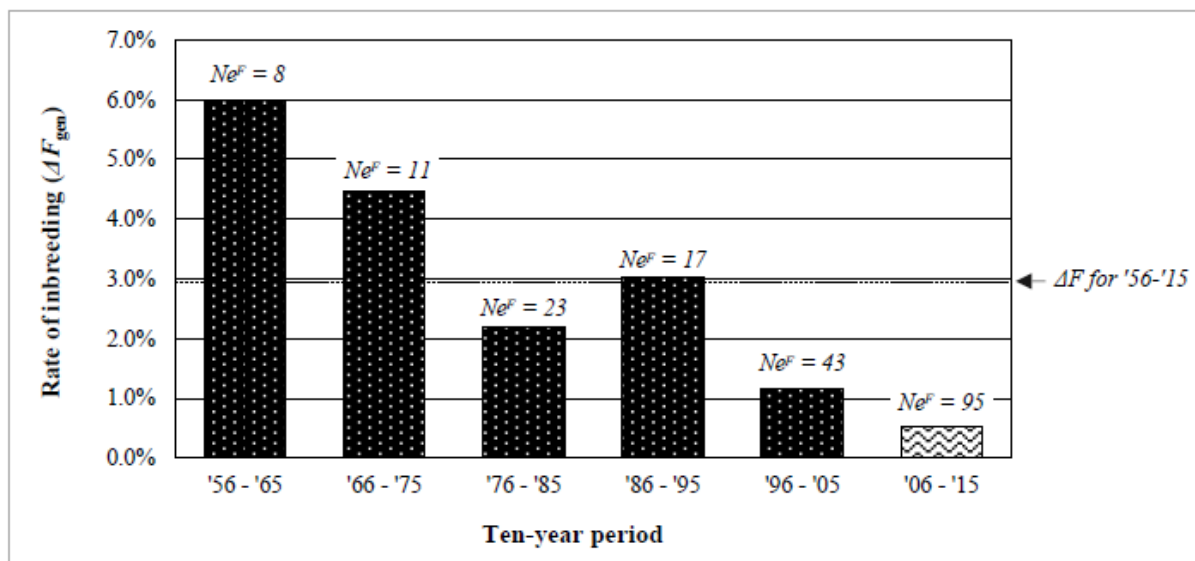


Figure 17. Rate of inbreeding ($\Delta\bar{F}_{gen}$) and inbreeding effective population size (Ne^F) in the Stabyhoun per ten-year period from 1956 to 2015. Bars are filled according to the risk categories in table 2: black bars with white dots indicate an (unacceptably) high risk with $\Delta\bar{F}_{gen} > 1.0\%$, and the zigzag indicates a high risk with a $\Delta\bar{F}_{gen}$ between 0.5% and 1.0%.

De verwantschap binnen de effectieve populatiegrootte (Ne^F) 1956-2015 was 20,25 en daarmee iets hoger dan de Ne^F .

Genetische diversiteit 2: waarschijnlijkheid van genenherkomst

Een totaal van 30 founders werd in het stamboek geïdentificeerd (f_{tot}). 11 van deze founders werden geboren in 1940-1950, 18 in 1950-1960 en 1 in 1982. Er waren geen semi-founders.

Table 21. The 10 founders with the highest contribution to the gene pool (GP) of Stabyhouns born in 2010-2015 ($n = 3764$)

Registration number	Name	Sex	Year of birth	Contribution to		
				GP*	\bar{F}^\dagger	\bar{f}^\dagger
NIET GEREG. 2	Staby	F	1944	0.207360	0.076155	0.077042
NIET GEREG. 1	Bruno	M	1950	0.207360	0.076155	0.077042
NHSB G0 253630	Autgertsje	F	1954	0.195788	0.063645	0.064540
VR 27	Albert	M	1940	0.122866	0.042787	0.043331
VR 14	Aukje	F	1940	0.122866	0.042787	0.043331
NHSB G0 250780	Adelheit	F	1958	0.045278	0.010575	0.010814
NHSB G0 227627	Aagje	F	1957	0.034630	0.003364	0.003570
NHSB G0 250784	Aisje	F	1956	0.017613	0.001684	0.001788
NHSB G0 227624	Hertha	F	1956	0.017194	0.002717	0.002812
VR 50	Durk	M	1944	0.012087	0.001584	0.001652

* The probability of gene origin, i.e. the fraction of genes in the group passed on by the founder.

[†] Contribution of genes of founders to the average inbreeding coefficient and the average coancestry of the group, with $\bar{F} = 0.323316$ and $\bar{f} = 0.327879$ for the Stabyhouns born in 2010-2015.

Het founderequivalent (f_e) voor de 2010-2015 referentiegroep was 6,30, het foundergenoom equivalent (F_{ge}) 1,52 en het effectieve aantal niet-founders 2,01. De f_e/f_t verhouding van 0,21 impliceert een aanzienlijke selectie tijdens het bestaan van het ras. De ongelijke bijdrage van founders wordt verder geïllustreerd in tabel 21, waarin de tien founders met de hoogste bijdrage aan de

genenpool (GP) van de referentiegroep worden weergegeven. Deze tien founders samen zijn verantwoordelijk voor meer dan 98% van de huidige GP. Meer dan 85% wordt bijgedragen door de vijf meest invloedrijke founders: Staby, Bruno, Autgertsje, Albert en Aukje. De genen van deze vijf founders samen dragen 0,302 bij aan het gemiddelde inteeltcoëfficiënt (93%) en de gemiddelde verwantschap 0,305 (ook 93%). Er waren 16 founders (53%) zonder bijdrage aan de huidige GP.

Het aandeel van de genetische diversiteit die verloren is gegaan als gevolg van een ongelijke bijdragen van founders ($1-GD^*$) was 8,1%. Het totale deel van de genetische diversiteit die verloren ging als gevolg van selectie en drift ($1-GD$) was 32,8%. Het totale verlies als gevolg van willekeurige drift in de niet-founder generaties was dus 24,7%, wat resulteerde in een gemiddeld verlies van 2,03% per generatie, gebaseerd op de ~12 generaties zijn verstreken zijn sinds de founders leefden.

4.2. Erfelijke aandoeningen

In deze paragraaf worden de resultaten per erfelijke aandoening gepresenteerd. Aan het eind van de paragraaf, in tabel 26 wordt een overzicht gegeven van alle geanalyseerde stoornissen.

Heupdysplasie (HD)

Een totaal van 2621 Stabijhounen, allen geboren tussen 1964 en 2014, had een geregistreerde HD-status. Van deze dieren werd 55,9% gediagnosticeerd met ten minste HD-B en 32,7% met tenminste HD-C. De dieren met tenminste HD-C werden beschouwd als aangedaan.

De prevalentie van HD werd verder geëvalueerd voor Stabijhounen geboren in de periode 2007-2012 en in Nederland, Zweden, Finland, Denemarken, Noorwegen en de Verenigde Staten van Amerika geregistreerd (tabel 22A). De totale prevalentie van HD in deze periode en deze landen lag tussen de 5,4% en 20,8%. Een minimale prevalentie van 5,4% werd gevonden in de veronderstelling dat alle betrokken dieren in de populatie ook werden gescreend. Indien bijvoorbeeld slechts de helft van de getroffen dieren in de populatie werd gescreend, zou de werkelijke prevalentie 10,8% bedragen. Een prevalentie van 20,8% werd gevonden in de afgeschermd maximale of "ziekenhuis" populatie.

De minimale en maximale prevalentie had een bereik van 1,7-24,8% en 4,5-46,4% in de verschillende landen. Zowel de minimale als maximale prevalentie waren het hoogst in Zweden en Finland. Nederland toonde de laagste minimale prevalentie. Deze bevindingen komen overeen met een relatief groot aantal Stabijhounen in Zweden en Finland dat wordt gescreend (> 60%) en een relatief klein aantal in Nederland dat wordt gescreend (17,4%).

Wanneer getroffen dieren werden gezien als dieren met tenminste HD-B werd een algemene minimale en maximale prevalentie van respectievelijk 10,3% en 39,4% gevonden.

Teven leken aanvankelijk een hogere prevalentie dan reuen te hebben, wanneer hun kans te worden gediagnosticeerd met tenminste HD-C werd afgezet tegen de kansen voor reuen (CI_{95} : 1,229-1,625). Deze aanleg bleek echter niet voor de maximale prevalentie aanwezig (waarvoor geen significante OR van 1,136 gevonden werd). Het waargenomen geslachtsverschil op het niveau van de populatie kan (grotendeels) worden verklaard uit het verwarrende feit dat teven vaker worden gescreend dan reuen; 60,6% van de gescreende populatie was teef, terwijl 50,5% van de hele populatie teef was.

Een positieve relatie tussen lichaamsgewicht en de mate van HD werd gevonden in dieren waarvan de HD-status, lichaamsgewicht en schofthoogte bekend waren (tabel 23). Fisher's beschermd LSD bevestigde dat het gemiddelde gewicht in groepen met HD-D en HD-E hoger was dan het gemiddelde gewicht in groepen HD-A en -B op het 0,05 significantieniveau.

De relatie tussen BMI, berekend als het gewicht van een individu gedeeld door het kwadraat van de schouderhoogte, en HD-score was minder duidelijk. Door de ongelijke variantie voor BMI via HD-scores (tabel 23), werd de niet-parametrische Kruskal-Wallis-test uitgevoerd. Deze test toonde aan dat de gemiddelde BMI niet gelijk is voor alle groepen, maar was niet in staat enige significante paarsgewijze verschillen te identificeren. Een positieve relatie tussen BMI en HD-status lijkt echter aanwezig te zijn in tabel 23.

Table 23. Mean \pm standard deviation of weight and BMI per HD-status in the Stabyhoun

	HD-status				
	A (n = 653)	B (n = 253)	C (n = 231)	D (n = 130)	E (n = 7)
Weight (kg)	20.62 \pm 2.91	20.42 \pm 2.77	21.31 \pm 2.95	21.52 \pm 2.84	22.86 \pm 4.45
BMI (kg/m ²)	81.81 \pm 9.36	81.59 \pm 9.66	85.91 \pm 29.21	88.75 \pm 55.31	85.50 \pm 15.11

Een positieve relatie werd ook gevonden tussen het deel Stabyhounen aangedaan door HD en hun leeftijd bij screening. Deze relatie is waarschijnlijk onafhankelijk van de verhouding tussen HD en lichaamsgewicht, aangezien de correlatie tussen de leeftijd en het lichaamsgewicht in de betrokken Stabyhounen zeer klein was ($R^2 = 0,02$). Het aantal gescreende dieren met HD-C, HD-D en HD-E nam toe met een hogere leeftijd (figuur 18); het totale aantal aangedane dieren was bijvoorbeeld 0,48 in de totale gescreende groep dieren van 3 jaar en ouder, 0,22 in de gescreende dieren tussen 1 en 1,5 jaar oud.

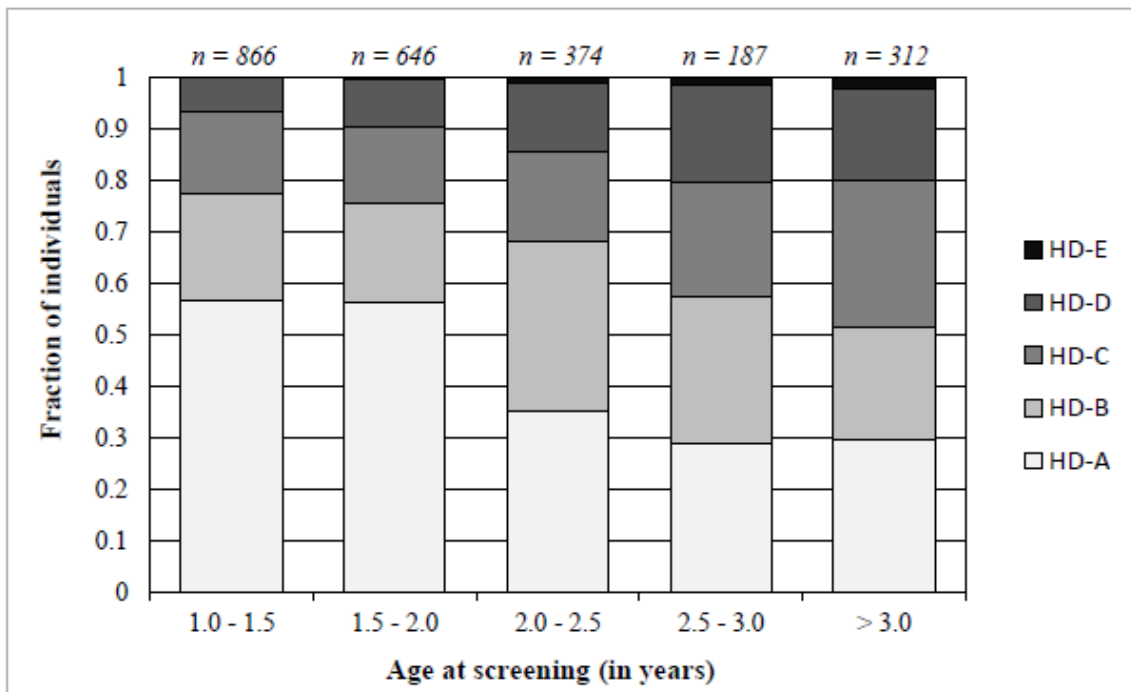


Figure 18. Fraction of Stabyhouns per HD-score per age-class for Stabyhouns with a known age at HD-screening

Table 22A. ED and HD status of screened Stabyhouns born in 2007 - 2012 in the Netherlands (NL), Sweden (SE), Finland (FI), Denmark (DK), Norway (NO) and the United States of America (USA)

Status	NL		SE		FIN		DK		NO		USA		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
HD	397	83.2	93	35.2	23	20.9	41	47.7	26	83.9	33	75.0	613	60.6
HD - A	15	3.1	106	40.2	36	32.7	21	24.4	2	6.5	9	20.5	189	18.7
HD - B	49	10.3	53	20.1	39	35.5	15	17.4	0	0	2	4.5	158	15.6
HD - C	16	3.4	12	4.5	10	9.1	8	9.3	3	9.7	0	0	49	4.8
HD - D	0	0	0	0	2	1.8	1	1.2	0	0	0	0	3	0.3
HD - E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	477	100	264	100	110	100	86	100	31	100	44	100	1012	100
ED	26	52.0	206	86.2	80	78.4	61	83.6	25	83.3	35	89.7	433	81.2
Grade 0	1	2.0	30	12.6	17	16.7	9	12.3	3	10.0	2	5.1	62	11.6
Grade 1	0	0	2	0.8	4	3.9	1	1.4	0	0	2	5.1	9	1.7
Grade 2	0	0	0	0	1	1.0	2	2.7	1	3.3	0	0	4	0.8
Grade 3	23	46.0	1	0.4	0	0	0	0	1	3.3	0	0	25	4.7
Total	50	100	239	100	102	100	73	100	30	100	39	100	533	100

* Individuals registered as affected, but without known grade.

Table 22B. Minimal and maximal prevalence of ED and HD in Stabyhouns born in 2007 - 2012 per county of registration

	NL	SE	FIN	DK	NO	USA	Total
Total number of born individuals	2743	441	206	326	33	115	3864
HD	% of total screened	17.4	59.9	53.4	26.4	93.9	38.3
	Minimal prevalence*	2.4	14.7	24.8	7.4	9.1	1.7
	Maximal prevalence*	13.6	24.6	46.4	27.9	9.7	4.5
ED	% of total screened	1.8	54.2	49.5	22.4	90.9	33.9
	Minimal prevalence*	0.9	7.5	10.7	3.7	15.2	3.5
	Maximal prevalence*	48.0	13.8	21.6	16.4	16.7	10.3
							18.8

* Minimal prevalence = $n_{\text{affected}} / n_{\text{total}} \times 100$; Maximal prevalence = $n_{\text{affected}} / n_{\text{screened}} \times 100$. Affected individuals have at least HD-C or ED-grade 1

Elleboogdysplasie (ED)

Een totaal van 942 Stabijhounen, allen geboren tussen 1989 en 2014, had een geregistreerde ED-status. De prevalentie van ED bij deze dieren was gelijk aan 19,3%, uitgaande van dysplastische honden met graad 1 of hoger. In de meer recente periode 2007-2012 was de maximale prevalentie iets lager, namelijk 18,8% (tabel 22B). Een minimale prevalentie van 2,6% werd gevonden voor deze periode. De minimale en maximale prevalentie toonde een bereik van 0,9-15,2% en 10,3-48,0% in de verschillende landen. Nederland had zowel de laagste minimale als de hoogste maximale prevalentie, wat (gedeeltelijk) te wijten is aan de kleine hoeveelheid die wordt gescreend op ED (1,8%) en 23 Stabijhounen die als "getroffen" geregistreerd werden zonder bekende gradatie.

Voor alle gescreend dieren werd een man : vrouw OR van 1.524 (CI₉₅: 1.100-2.110) gevonden. Dit hoger risico voor reuen was echter niet significant voor de groep 2007-2012 (OR CI₉₅: 0,891-2,137).

De relatie tussen HD en elleboogdysplasie (ED) werd onderzocht onder de 850 Stabijhounen die werden getest op beide stoornissen. De kans om te worden aangetast door ED was 1,96 keer hoger bij HD-D dan voor onaantaste dieren (CI₉₅: 1,259-3,040). In tabel 24 wordt aangetoond dat dit verband consistent was, gezien over de diverse gradaties van de aandoeningen. Een chi-kwadraat-test op onafhankelijkheid kon niet worden uitgevoerd op de clusters in deze tabel, vanwege het beperkte aantal ernstig getroffen individuen. Het clusteren van HD-B en HD-C (in plaats van A en B) loste dit probleem op en vertoonde een vergelijkbaar en significant patroon ($\chi^2 = 13,62$ en $P = 0,009$).

Table 24. ED-status percentages of Stabyhouns per HD status

HD-status	n	% per ED-status		
		Grade 0	Grade 1	Grade 2 / 3
A / B	639	90.30	8.45	1.25
C	153	84.31	11.11	4.58
D / E	60	78.33	15.00	6.67

Om het verband tussen lichaamsgewicht en ED te onderzoeken werden alle aangedane dieren (graad 1 tot 3 en de afzonderlijke "getroffen" groep) geclusterd. Het gemiddelde gewicht van deze getroffen dieren was 22,08 kg, wat iets boven het gemiddelde gewicht van 20,88 kg van de niet-aangedane dieren lag (tweezijdige t-test: $P = 0,087$) zijn. Er werd geen significant verschil gevonden ten aanzien van BMI, hoewel de gemiddelde BMI hoger was voor aangedane dieren dan voor niet-aangedane dieren (85,02 versus 81,91).

Epilepsie

Een totaal van 132 Stabijhounen met geregistreerde epilepsie werd geïdentificeerd. Deze dieren zijn geboren tussen 1977 en 2013. In de periode 2008-2012 werden gemiddeld 5,6 pups met epilepsie gemeld en geregistreerd per jaar, resulterend in een prevalentie van 0,85%.

Reuen werden significant vaker gerapporteerd als getroffen dan teven, met een OR van 1,86 (CI₉₅: 1,28-2,68). Dit geslachtsverschil was minder uitgesproken en niet significant in de recentere periode 2000 -2013, waarvoor een OR van 1,40 (CI₉₅: 0,88 - 2,23) werd gevonden. De aanleg was volledig afwezig in de periode 2008-2013.

Persisterende Ductus Arteriosus (PDA)

Er waren 62 Stabijhounen geregistreerd als getroffen door een hartaandoening, waarvan het in 48 gevallen onmiskenbaar om PDA ging. De meeste van de andere 15 dieren werden ofwel geregistreerd als getroffen door een andere hartstoornis of gezond na de eerste tekenen van disfunctie (zoals hartruis). Bij enkele dieren ontbrak de registratie van het type disfunctie.

Het eerste individueel geregistreerde dier met PDA is geboren in 1999. Een prevalentie van 0,48% werd gevonden voor de periode 1999-2014. De prevalentie was de afgelopen jaren hoger, te weten 0,75% in de periode 2009-2014. Er werd geen verschil gevonden tussen de geslachten in de prevalentie van PDA (CI₉₅ van reu-teef OR: 0,45-1,41).

Cerebrale dysfunctie (CD)

Een totaal van 16 pups werden geregistreerd als getroffen door CD. Deze pups werden geboren tussen 2009 en 2012 in 5 verschillende nesten. Op basis van het aantal getroffen pups en het totale aantal pups in deze jaren werden een prevalentie en een mutante allel-frequentie (q) van respectievelijk 0,58% en 0,076 geschat. Er werd geen significante geslachtsaanleg gevonden.

In 2004 werd nog een nest geboren met daarin drie pups getroffen door CD. Deze pups werden echter hier niet opgenomen omdat ze niet werden geregistreerd.

De DNA-test uitgevoerd in 2014 op niet-aangedane Stabijhounen hadden 170 vrije dieren en 26 homozygote dragers als resultaat. Bij de HWE vergelijking geeft dit een mutante allel-frequentie (q) die 13,08 keer kleiner is dan de frequentie van het normale allel (p). Deze verhouding is in lijn met de geschatte q van 0,076 en er is dus geen indicatie van een afwijking van HWE.

Von Willebrand Ziekte, type 1 (vWD-1)

Er waren 53 dieren met een geregistreerd DNA-testresultaat. Deze Stabijhounen werden allen geboren in 2000-2013. De verdeling van de genotypes wordt weergegeven in tabel 25.

Table 25. Observed genotype of Stabyhouns with registered vWD-I screening result and expected genotypes under HWE (n = 53)

VWD-I genotype	n_{observed}	$\%_{\text{observed}}$	n_{expected}
Homozygous normal	16	30.19	18.72
Heterozygous	31	58.49	25.56
Homozygous mutant	6	11.32	8.72
<i>Total</i>	<i>53</i>	<i>100</i>	<i>53</i>

In de groep met geregistreerd screeningsresultaat zijn p en q gelijk aan respectievelijk 0,594 en 0,406. De beste schatting van de totale prevalentie van vWD-1 in de populatie, Indien de prevalentie van zowel homozygoten als heterozygoten gecombineerd worden, was de beste schatting voor het gemiddelde in de populatie 69,8%. Er waren meer heterozygoten dan verwacht bij HWE, zoals aangegeven in de tabel. Dit verschil was echter niet significant (chi-kwadraat goodness of fit: $\chi^2 = 2,40$ en $P = 0,301$), wat in lijn is met het passieve fokbeleid ten aanzien van vWD-1.

Overzicht afwijkingen

Een overzicht van de analyse van erfelijke aandoeningen voor de Stabijhounpopulatie is weergegeven in tabel 25.

Table 26. Overview of main results per inherited disorder in the Stabyhoun

Disorder	Prevalence (%)	Allele freq. (q)	Remarks
HD	5.4 - 20.8	NA	No sex predisposition, females more often screened than males, sign. relationship with body weight and age and association with ED
ED	2.6 - 18.8	NA	Males seem to be more often affected than females, tendency to relationship with body weight, association with H
Epilepsy	0.85	NA	Males seem to be more often affected than females
PDA	0.75	NA	No sex predisposition
CD	0.58	0.076	No sex predisposition, no significant deviation from HWE
vWD-I	69.8	0.406	No sex difference, no significant deviation from HWE

4.3. Simulatie van de fokkerij strategieën

De verkregen resultaten in de stamboomanalyse werden gebruikt als input voor het simulatieprogramma. De input gebruikt voor de baseline simulatie is opgenomen in bijlage 4. De resultaten van verschillende gesimuleerde fokstrategieën worden hieronder weergegeven.

Dekbeperkingen

Dekbeperkingen waren over het algemeen zeer effectief in het verminderen van de inteeltgraad in de gesimuleerde Stabijhounpopulaties, zoals weergegeven in tabel 27A. De hoge effectiviteit kan worden verklaard door de aanwezigheid van een “popular sire effect” in de (gesimuleerde) populatie. Zeer strikte fokbeperkingen per leven bleken echter minder effectief dan matige beperkingen per leven. Het simuleren van strengere fokbeperkingen per leven verkortten de generatie-interval, ongeacht de gesimuleerde fokbeperking per jaar (tabel 27B).

Table 27A. Effect of restricting the use of sires per year and life on mean $\Delta\bar{F}_{gen}$ (in %) of the 25 simulated Stabijhoun populations*

Max no. of litters / year	Max no. of litters / life:				
	No [†]	20	10	5	2
No	4.37	-	-	-	-
20	2.89	0.98	-	-	-
10	1.04	0.66	0.73	-	-
5	0.48	0.42	0.44	0.63	-
2	0.31	0.32	0.31	0.26	0.30

*Dams were restricted to maximal 5 litters per life

[†]The 5 most popular sires sired 11% of offspring

Table 27B. Effect of restricting the use of sires per year and life on the mean generation interval (in years) of the 25 simulated Stabijhoun populations*

Max no. of litters / year	Max no. of litters / life:				
	No [†]	20	10	5	2
No	4.04	-	-	-	-
20	4.08	3.30	-	-	-
10	4.04	3.67	3.65	-	-
5	4.01	3.87	3.80	3.63	-
2	3.98	3.99	3.92	3.66	2.85

*Dams were restricted to maximal 5 litters per life

[†]The 5 most popular sires sired 11% of offspring

De fokbeperkingen die momenteel worden gehanteerd door de rasvereniging - maximaal 2 nesten per reu per jaar en 10 per leven (waarvan 8 in hetzelfde land) - resulteerde in een van de laagste inteeltgraden in tabel 27A. De daling van de gemiddelde generatie-interval was relatief klein en het gemiddelde COI na 50 jaar was het laagste van alle combinatie van fokbeperkende maatregelen die waren gesimuleerd.

Sturen op verwantschap met fokprogramma's

Sturen op verwantschap bleek zeer effectief te zijn als fokbeperkingen afwezig zijn en licht tot matig effectief als er dekbeperkingen voor reuen gehanteerd werden (tabel 28).

Table 28. Effect of various mating programs on the mean $\Delta\bar{F}_{gen}$ (in %) and mean generation interval (in years) of 25 simulated Stabijhoun populations (100 years each), both with and without breeding restrictions

Sire breeding restrictions	Mating program	$\Delta\bar{F}_{gen}$			Generation interval
		Overall	Year 0-20	Year 20-100	
None	None	4.40	4.36	4.43	3.99
	Min. coancestry mating	4.17	3.29	4.21	4.27
	Min. population coancestry	0.42	0.39	0.42	4.00
	Optimal contributions	0.27	0.23	0.27	4.53
Max. 2 litters per sire per year and 10 litters per sire per life	None	0.30	0.32	0.30	3.95
	Min. coancestry mating	0.24	0.03	0.26	4.40
	Min. population coancestry	0.17	0.18	0.17	4.27
	Optimal contributions	0.18	0.15	0.18	4.64

Minimale verwantschapsparing was vooral effectief op de korte termijn. Op de lange termijn, bij het minimaliseren van populatieverwantschap en optimaal gebruik van bijdragen leidden beide methoden tot een vermindering in ΔF_{gen} van 0,12-0,13% , dit bovenop de reductie veroorzaakt door de toegepaste fokbeperkingen. Deze methode leek ook de generatie-interval te verhogen met ongeveer een half jaar.

Het vergroten van de fokpopulatie

Het effect van het vergroten van de grootte van de fokpopulatie op het inteeltpercentage is weergegeven in tabel 29A. Alleen de toevoeging van vele extra Stabijhounen aan de fokpopulatie leidde tot een aanzienlijke daling van ΔF_{gen} . De omvang fokpopulatie werd 1,75 tot 2 maal vergroot (dat wil zeggen meer dan 250 extra fokdieren) tot een afname van ΔF_{gen} die vergelijkbaar is met de daling, gerealiseerd met gebruik van minimale populatieverwantschap op optimale bijdragen. In absolute cijfers was het effectiever om extra dekruen toe te voegen dan extra fokteven, iets dat kan worden verklaard door de reu-teef-verhouding in het basisscenario, dat lager is dan 1:2.

Table 29A. Effect of increasing the number of available breeding males and females per year on the mean ΔF_{gen} (in %) of the 25 simulated Stabyhoun populations

Males available for breeding [†]	Females available for breeding						
	n = 222 (baseline*)	n = 233 (+5%)	n = 244 (+10%)	n = 278 (+25%)	n = 333 (+50%)	n = 389 (+75%)	n = 444 (+100%)
n = 105 (baseline*)	0.31	0.30	0.29	0.28	0.25	0.24	0.22
n = 110 (+5%)	0.30	0.30	0.29	0.27	0.25	0.23	0.22
n = 116 (+10%)	0.29	0.29	0.29	0.26	0.25	0.23	0.21
n = 131 (+25%)	0.28	0.28	0.28	0.26	0.23	0.21	0.20
n = 158 (+50%)	0.26	0.25	0.25	0.23	0.21	0.19	0.19
n = 184 (+75%)	0.25	0.24	0.24	0.22	0.20	0.20	0.17
n = 210 (+100%)	0.24	0.22	0.21	0.20	0.18	0.17	0.16

* The estimated number of yearly available breeding individuals for the period 2010-2014

[†] Sires were restricted to maximal 2 litters per year and maximal 10 litters per life

Table 29B. Effect of increasing the number of available breeding males and females per year on the generation interval (in years) of the 25 simulated Stabyhoun populations

Males available for breeding [†]	Females available for breeding						
	n = 222 (baseline*)	n = 233 (+5%)	n = 244 (+10%)	n = 278 (+25%)	n = 333 (+50%)	n = 389 (+75%)	n = 444 (+100%)
n = 105 (baseline*)	3.92	3.96	3.92	3.94	3.88	3.76	3.68
n = 110 (+5%)	3.93	3.98	3.93	3.95	3.89	3.79	3.66
n = 116 (+10%)	3.94	4.01	3.98	3.94	3.92	3.85	3.72
n = 131 (+25%)	3.94	3.94	3.95	3.94	3.92	3.92	3.84
n = 158 (+50%)	3.96	3.97	3.96	3.96	3.97	3.96	3.95
n = 184 (+75%)	3.95	3.98	3.96	4.01	4.01	4.01	3.96
n = 210 (+100%)	4.02	3.93	3.95	4.03	3.97	3.98	4.01

* The estimated number of yearly available breeding individuals for the period 2010-2014

[†] Sires were restricted to maximal 2 litters per year and maximal 10 litters per life

Voor een scenario met een kleiner aantal beschikbare dekruen en een groter aantal beschikbare teven was de generatie-interval relatief kort (tabel 29B). Hoewel deze uitkomst onverwacht was kan dit ook worden verklaard door de lage reu-teef ratio. Wanneer er relatief weinig reuen beschikbaar waren werden ze in de simulatie vaker gebruikt op een jonge leeftijd om zo het aantal nesten per jaar gelijk te houden met de helft van de beschikbare teven. De gemiddelde leeftijd waarop reuen hun

deklimiet van 10 nesten per leven bereikten ging daardoor omlaag, met in deze scenario's als resultaat een lagere generatie-interval.

Selectie tegen monogenetische erfelijke afwijkingen

Het effect van directe selectie tegen monogenetische afwijkingen in de Stabijhoun wordt getoond in tabel 30 (selectie tegen vWD-1) en tabel 31 (selectie tegen CD).

Table 30. Effect of different types of selection against vWD-I on the $\Delta\bar{F}_{gen}$ and the mutant allele frequency (with an initial q of 0.406) in 25 simulation runs of 50 years each.

Selection against	\bar{F} at 50y (in %)	$\Delta\bar{F}_{gen}$ (in %)		Mean fixation y in fixed runs (n)	Mean q at 50y in non-fixed runs (n)
		0-5y	6-50y		
none of the individuals	5.39	0.44	0.42	NA (0)	0.373 (25)
homozygotes	5.56	0.41	0.44	NA (0)	0.051 (25)
homozygotes and ♂ heterozygotes	5.75	0.81	0.44	23 (25)	0.001 (1)
homozygotes and ♀ heterozygotes	5.97	0.59	0.44	28 (24)	NA (0)
homozygotes and all heterozygotes	6.13	1.27	0.43	1 (25)	NA (0)

Table 31. Effect of different types of selection against CD on the $\Delta\bar{F}_{gen}$ and the mutant allele frequency (with an initial q of 0.076) in 25 simulation runs of 50 years each.

Selection against	\bar{F} at 50y (in %)	$\Delta\bar{F}_{gen}$ (in %)		Mean fixation y in fixed runs (n)	Mean q at 50y in non-fixed runs (n)
		0-5y	6-50y		
none of the individuals	5.39	0.44	0.42	41 (1)	0.068 (24)
homozygotes	5.40	0.51	0.43	34 (4)	0.036 (21)
homozygotes and ♂ heterozygotes	5.70	0.51	0.45	15 (25)	NA (0)
homozygotes and ♀ heterozygotes	5.54	0.44	0.45	18 (25)	NA (0)
homozygotes and all heterozygotes	5.53	0.52	0.44	1 (25)	NA (0)

In de bovenstaande tabellen wordt benadrukt dat de selectie tegen een monogenetische aandoening met een hoge prevalentie de $\Delta\bar{F}_{gen}$ in met name de eerste jaren van de selectie kan verhogen. Selectie tegen een zeldzame aandoening, zoals CD, is nauwelijks van invloed op de $\Delta\bar{F}_{gen}$ en consistente selectie van dragers van een dergelijke stoornis leidt tot een snelle fixatie van het normale allel. Voor zowel vWD-I als CD leidde selectie tegen mannelijke heterozygoten tot een lagere gemiddelde fixatie jaar dan selectie tegen vrouwelijke heterozygoten. De $\Delta\bar{F}_{gen}$ in de eerste jaren was echter lager in het laatste geval.

5. Discussie

De enorme variatie binnen hondenrassen wat betreft populatiestatus en genetische diversiteit wordt benadrukt door deze studie. Naast het verschil in grootte populatie, met het Markiesje als een van de kleinste en Stabijhoun als één van de grootste oorspronkelijke Nederlandse hondenrassen (Hoving & Cnossen, 2009), verschillen de geanalyseerde rassen in tal van populatieparameters (tabel 32).

Table 32. Comparison of population parameters of the Markiesje and the Stabyhoun

Category	Parameter	Markiesje	Stabyhoun
General	Year of breed club foundation	1979	1942
	Living population size	1200	7000
	Number of pups born per year (for recent years)	120	700
	Percentage of males selected for breeding (%)	26.2	7.8
	Percentage of females selected for breeding (%)	36.7	17.6
	Litter size	4.2	6.3
	Generation interval (years)	3.42	4.42
Genetic diversity I	Current GD as proportion of founder GD	0.87	0.67
	Average COI in 2015 (%)	11.3	33.4
	Inbreeding rate for whole existence of breed (%)	1.27	2.96
	Inbreeding rate for period 2005-2014 (%)	1.04	0.53
	Interval between inbreeding and coancestry (years)	8.0	2.5
Genetic diversity II	Total number of founders	54	30
	Founder equivalent	14.6	6.3
	Founder genome equivalent	4.1	1.5
	Effective number of non-founders	5.7	2.0
Inherited disorders	Prevalence* of:		
	- PL, polygenic (%)	21.74	NA
	- PRCD, monogenic (%)	1.37	NA
	- Neuropathology, monogenic (%)	0.8	NA
	- HD, polygenic (%)	NA	20.8
	- ED, polygenic (%)	NA	18.8
	- Epilepsy, polygenic (%)	NA	0.85
	- PDA, polygenic (%)	NA	0.75
	- CD, monogenic (%)	NA	0.58
- vWD-I, monogenic (%)	NA	69.8	
Effectiveness of breeding strategies on decreasing inbreeding rate	Sire breeding restrictions	Low	Very high
	Applying minimum coancestry mating	High	High
	Enlarging population size	Very high	Low

* For PL, PRCD, HD and vWD-I the maximal prevalence, i.e. the prevalence within screened individuals, is given. For the other disorders the minimal prevalence, i.e. the percentage of all individuals that is registered as affected. For vWD-I it is the percentage of screened individuals that is heterozygous or homozygous for the mutant allele (both are affected).

De huidige genetische diversiteit in de Markiesje (87% van de GD was aanwezig in 54 founders en 44 semi-founders) wordt groter geacht dan die in de Stabijhoun (67% van GD aanwezig in 30 founders). De huidige GD in beide rassen wordt waarschijnlijk overschat, omdat de founders die verondersteld worden onverwant te zijn in de werkelijkheid wel degelijk verwant kunnen zijn. Deze overschatting is vooral een probleem voor rassen met een lange geschiedenis voorafgaand aan de registratie (Mäki, 2010). Zoals de Stabijhoun reeds langer dan een eeuw in Friesland werd gefokt, voorafgaand aan de set-up van het stamboek, zal de gemiddelde verwantschap in dit ras een sterk onderschat worden. De overschatting van de founders zal waarschijnlijk minder groot zijn in het Markiesje, aangezien de founders van dit ras afkomstig zijn uit verschillende geografische locaties.

Het Markiesje

Ondanks de dalende inteeltgraad sinds 2001, wordt de Markiesje nog steeds beschouwd als een populatie met een onaanvaardbaar hoog risico op de accumulatie van erfelijke aandoeningen. De totale effectieve populatiegrootte van 39 valt in het onderste deel van het bereik van de effectieve populatiegroottes voor rassen onderzocht in Frankrijk (Leroy et al., 2013) en Australië (Shariflou et al., 2011), die in NeF respectievelijk van 33 -257 en 26-1090 varieert. Aangezien de gemiddelde verwantschap bepaalt wat de gemiddelde COI zijn kan op lange termijn (Oldenbroek & Windig, 2012), en de COI de verwantschap volgt met een interval van tot nog toe meer dan tweemaal de generatie-interval, wordt verwacht dat de gemiddelde COI verder zal toenemen in de (nabije) toekomst als er geen aanvullende maatregelen worden genomen.

De kleine omvang van de populatie wordt gezien als de belangrijkste reden voor de snelle toename van inteelt. Ondanks het opmerkelijk hoge aantal Markiesjes dat wordt gebruikt voor het fokken, vergeleken met de Stabij en andere rassen (Hoving & Cnossen, 2009; Voges & Distl, 2009; Leroy & Baumung, 2011), is het absolute aantal gefokte Markiesjes laag, waardoor onvermijdelijke inteelt volgt. De simulatie-resultaten toonden aan dat het vergroten van de effectieve populatiegrootte zeer effectief was in het verminderen van de inteeltgraad. Het toevoegen van teven de fokpopulatie bleek effectiever dan het toevoegen van reuen. Hoewel deze bevinding onverwacht was, kan deze worden verklaard door de relatieve overmaat aan reuen in het basisscenario. Aangezien teven slechts eenmaal per twee jaar een nest mogen werpen en reuen meerdere malen per jaar mogen dekken is het handiger om in teven te investeren dan in reuen.

Het vergroten van de omvang van de populatie op een verantwoorde manier is echter geen eenvoudige taak. Een ras-specifieke factor die beperkend werkt is de worpgrootte. Hoewel de waargenomen worpgrootte exact gelijk is aan de gemiddelde worpgrootte van 4,2 voor kleine honden van 5-10 kg (Borge et al., 2011), is deze laag in vergelijking met de gemiddelde worpgrootte van 5,4 voor rassen vele afmetingen, zoals gemeld door Borge et al. en zeer laag in vergelijking met de worpgrootte van de Stabij. Daarnaast is het geringe aantal Markiesjes beschikbaar voor de fokkerij beperkend voor de mogelijkheid van uitbreiding van de populatie zonder een belangrijke toename van de verwantschap. Een goede optie is dan ook gebruik te maken van semi-openen van het stamboek en zo de populatie te vergroten via uitkruising met look-alikes (dat wil zeggen honden die lijken op het Markiesje maar een onbekende afkomst hebben). De effectiviteit van uitkruising voor verbetering van de genetische gezondheid van het ras is logischerwijs afhankelijk van het aantal look-alikes dat zal worden gebruikt en de verwantschap tussen deze derden en tussen derden en de geregistreerde Markiesjes. Omdat de meeste Markiesje-look-alikes afkomstig zijn uit verschillende geografische locaties wordt gedacht dat ze een relatief lage verwantschap hebben met de huidige stamboekdieren. Het is echter raadzaam om look-alikes te testen op verwantschap vóór toelating in het stamboek. Indien het aantal beschikbare dubbelgangers beperkt is of wanneer de look-alikes een te hoge verwantschap met de stamboekdieren hebben kan uitkruising met andere rassen worden overwogen voor verdere groei van het ras. Dergelijke uitkruising dient altijd systematisch uitgevoerd te worden (zie bijvoorbeeld (Oldenbroek & Windig, 2012) voor een uitkruisingsschema) en er moet worden voorkomen dat een groot deel van de populatie wordt gekruist met een kleine groep van sterk verwante individuen. Aangezien één van de eisen inzake internationale erkenning een voldoende grote - en meestal gesloten - populatie is (FCI, 2003), is het raadzaam het ras te vergroten via uitkruising vóór FCI erkenning.

Een andere factor die het verlies van genetische diversiteit versnelt in het Markiesje is de generatie-interval, die relatief kort is vergeleken met de generatie-interval van 4 tot 5 jaar die wordt waargenomen bij de Stabijhoun en de meeste andere rassen (Mäki, 2010,. Shariflou et al, 2011). De korte generatie-interval wordt voornamelijk veroorzaakt door het gebruik van jonge reuen. Hoewel een korte generatie-interval snelle kunstmatige selectie mogelijk zou maken, zorgt het ook voor een snellere toename van de inteelt. Naast het verminderen van deze toename, maakt een langere generatie-interval het beter mogelijk in te grijpen in het fokproces (Oldenbroek & Windig, 2012). De waargenomen toename van de generatie-interval tijdens het bestaan van het ras wordt daarom gezien als een zeer positieve ontwikkeling.

Een derde factor om te overwegen bij gerichte pogingen om de genetische diversiteit te behouden betreft de founders en hun bijdrage aan de huidige genenpool. Het aantal waargenomen founders (54) was matig in vergelijking met andere rassen (Oliehoek et al, 2009;. Mäki, 2010;. Shariflou et al, 2011) en creëerde een redelijk brede eerste genetische diversiteit, samen met de 44 semi-founders. De verhouding van f_e / f_{tot} van 0,27 geeft een ongelijke bijdrage van de founders en het daarmee gepaard gaande verlies van genetische diversiteit, dat is gemiddeld in vergelijking met andere rassen waarvoor deze verhouding varieert van 0,12 tot 0,42 (Voges & Distl, 2009; Mäki, 2010; Shariflou et al., 2011). Het effectieve aantal niet-founders was hoog, hetgeen wijst op een relatief laag verlies van genetische diversiteit dankzij genetische drift in relatie tot selectie, in vergelijking met de Stabijhoun en andere grote rassen. Deze bevinding was onverwacht vanwege de kleine omvang van het ras. Twee oververtegenwoordigde founders, Pom en Rasta, bleken verantwoordelijk te zijn voor 30% van de huidige genenpool. Om de allelen van andere founders te behouden is het raadzaam om in de toekomst te fokken met Markiesjes die minder te maken hebben met Pom en Rasta.

Andere algemene fokkerijmethodes die werden geanalyseerd zijn fokbeperkingen en de paringsprogramma's. De dekbeperking voor reuen die door de rasvereniging werden toegepast bleken effectief te zijn in het beperken van de inteeltgraad. In het licht van de aanbeveling de populatie te vergroten echter, zou kunnen worden overwogen de beperking van de maximale 5 nesten per reu per leven te versoepelen tot 10 nesten per leven, aangezien de inteeltgraad in de gesimuleerde bevolking nauwelijks leek te beïnvloeden (zolang er zich geen "popular sire syndrom" voordoet). Minimalisering van de populatieverwantschap bleek ook effectief om de inteeltgraad te doen dalen en kan een optie zijn voor het ras, naast het vergroten van de populatie.

Het huidige aantal erfelijke aandoeningen in de Markiesje (3) is laag in vergelijking met andere rassen. In een studie van 50 rassen in het Verenigd Koninkrijk varieerde het totale aantal aandoeningen per ras van 4 tot 77 (Summers et al., 2010). Het lage aantal aandoeningen is echter geen garantie voor de toekomst, aangezien het inteeltpercentage onaanvaardbaar hoog is.

De prevalentie van PL in de gescreende Markiesjes was gelijk aan de prevalentie in andere hondenrassen in Nederland, zoals de 23,6% in het Nederlands Flatcoated Retrievers (Lavrijsen et al., 2013) en 24% in Kooikerhondjes (Wangdee et al., 2014). Het hogere risico voor teven is in overeenstemming met de bevindingen in vele rassen met kleine honden (Priester, 1972;. Alam et al, 2007., Lavrijsen et al, 2013., Soontornvipart et al, 2013.). Deze sexe-aanleg kan worden gerelateerd aan hormonale verschillen of X-gebonden factoren die de expressie van PL beïnvloeden. Een andere hypothetische verklaring is de invloed van een tijdelijk verhoogd lichaamsgewicht tijdens de dracht. Deze hypothese kon niet worden onderzocht op het Markiesje, aangezien het lichaamsgewicht van de gescreende individuen niet bekend was. In tegenstelling tot de verhoogde aanleg bij teven in kleine honden werd bij grote honden melding gemaakt van een predispositie voor PL bij reuen (Gibbons et al., 2006). Het aantal gevallen waarbij het type luxatie bekend was, bleek te klein voor een betrouwbare gevolgtrekking. De meest voorkomende luxatierichting verschilt sterk tussen rassen (Alam et al, 2007., Lavrijsen et al, 2013; Wangdee et al, 2014). Selectie tegen PL, zoals toegepast door de rasvereniging, leek niet erg effectief te zijn. In de toekomst kunnen technieken zoals genomische selectie helpen om polygene aandoeningen zoals PL te bestrijden.

Hoewel van meer dan 29 rassen bekend is dat er PRCD voorkomt (Downs et al., 2014) kon geen prevalentieschatting worden gevonden voor deze aandoening. De selectiemaatregelen door de rasvereniging toegepast bleken doeltreffend te zijn, aangezien de prevalentie van PRCD de loop der tijd is afgenomen.

De neuropathologie werd en wordt verondersteld monogenetisch recessief zijn, omdat de aandoening generaties overslaat en in de aangetaste nesten meerdere dieren treft. Omdat reuen en teven even vaak aangetast lijken, wordt de aandoening verondersteld autosomaal te zijn. Het percentage van getroffen individuen in de aangetaste nesten was echter enigszins (maar niet significant) hoger dan verwacht voor een monogene autosomaal recessieve aandoening. Een mogelijke verklaring hiervoor is de aanwezigheid van epistase, waarbij de uiting van het neuropathologie-allel afhankelijk is van de

aanwezigheid van een allel op een andere locus. In de Dalmatische hond is bijvoorbeeld bekend dat het voorkomen van canine congenital sensorineural deafness (CSSD) wordt gelinkt met QTL's, wat de vorming van pigment beïnvloedt (Kluth & Distl, 2013). De GWAS die momenteel wordt uitgevoerd door de Universiteit Utrecht zal de genetische oorzaak van de neuropathologie hopelijk identificeren, zodat een DNA-test kan worden ontwikkeld en complete selectie haalbaar wordt. Complete selectie tegen de neuropathologie en PRCD zal de inteeltgraad niet aanzienlijk te verhogen aangezien dit ook niet gebeurde in de gesimuleerde populatie; dit vanwege de lage allel-frequenties. Wanneer men lijders echter gaat uitsluiten van de fokkerij moet men zich realiseren dat alle genen van die dieren verloren zullen gaan tenzij deze genen niet via andere dieren zullen worden doorgegeven.

De Stabijhoun

De situatie bij de Stabij is duidelijk verschillend van die bij het Markiesje. De huidige fokpopulatie wordt groot genoeg geacht voor het handhaven van een gezonde populatie, maar door de geschiedenis van het ras is de situatie behoorlijk problematisch geworden. Gedurende bijna een halve eeuw heeft het ras een zeer hoge inteelt ondergaan en een zeer lage NeF van minder dan 20. Gedurende deze tijd is een derde van de genetische diversiteit in de founders verloren gegaan en erfelijke aandoeningen hebben zich opgebouwd. Het inteeltpercentage is gestaag gedaald in de tijd, iets dat waarschijnlijk het gevolg is van de groeiende omvang van de populatie. Deze afname was vooral te merken in de laatste twee decennia, wat waarschijnlijk te danken aan de toepassing van strengere fokreglementen (bijvoorbeeld dekbeperkingen voor reuen en een maximaal toegestaan inteeltcoëfficiënt over drie generaties).

Het lage aantal (mogelijk verwante) founders en de afwezigheid van semi-founders veroorzaakte een smalle eerste genetische diversiteit in het ras. Zowel selectie als genetische drift hebben door de jaren heen aangetoond de aanvankelijke diversiteit aanzienlijk te verkleinen. Selectie tijdens de ontwikkeling van het ras was met een f_e / f_{tot} verhouding van 0,21 wat sterker dan in het Markiesje en leidde tot een opmerkelijk ongelijke bijdrage van de founders; de vijf meest invloedrijke founders droegen samen meer dan 85% aan de huidige genenpool bij. De aanwezigheid van extreem oververtegenwoordigde founders wordt soms ook gezien bij andere rassen, bijv. in de IJslandse Hond (Oliehoek et al., 2009). Een deel van de selectie in de Stabij vond plaats via het overmatig gebruik van reuen. Het verlies van diversiteit door genetische knelpunten bleek onverwacht hoog in de Stabijhoun vergeleken met de mate van selectie en het bottleneck-effect in het Markiesje. Waarschijnlijk wordt dit veroorzaakt door het lage aantal gebruikte fokdieren.

Fokbeperkingen bleken zeer effectief in het verminderen van de inteeltgraad in de gesimuleerde Stabijhounpopulaties (als er een "popular sire effect" aanwezig was) te zijn. De fokbeperking die thans door de fokkerij wordt toegepast, is echter al een van de meest effectieve beperkingen. Het minimaliseren van de populatieverwantschap was ook zeer effectief, terwijl het vergroten van de grootte van de populatie minder effectief was.

Het aantal erfelijke aandoeningen was twee keer zo hoog in de Stabijhoun (6) als in het Markiesje maar was nog steeds laag in vergelijking met de 50 meest populaire rassen in het Verenigd Koninkrijk (Summers et al., 2010).

In de huidige studie werden minimale en maximale prevalentie voor HD en ED gebruikt. Deze werden gedefinieerd als het percentage dieren geregistreerd als aangedaan binnen respectievelijk de gescreende populatie en de totale populatie. De minimale prevalentie is waarschijnlijk een ernstige onderschatting van de werkelijke prevalentie, aangezien velen dieren niet worden gescreend. De maximale prevalentie, anderzijds, wordt beschouwd als een lichte overschatting van de ware prevalentie, aangezien verdachte dieren zeer waarschijnlijk vaker worden gescreend dan niet-verdachte dieren. Door de verplichte screening van HD voorafgaand aan fokkerij worden echter ook niet-verdachte dieren gescreend voor deze aandoening en de werkelijke prevalentie zal de maximale prevalentie benaderen. Bij ED zal het verschil tussen de werkelijke prevalentie en de maximale prevalentie waarschijnlijk hoger zijn dan voor HD. Aangezien andere studies altijd redeneren vanuit de maximale prevalentie wordt deze parameter gebruikt voor de vergelijking met andere rassen.

De prevalentie van HD in gescreende Stabijhonden van 20,8% was vrij hoog in vergelijking met andere rassen (Witsberger et al, 2008;. Comhaire, 2014). Het was aanzienlijk hoger dan de gemiddelde prevalentie van 13,3% die werd gerapporteerd voor staande honden van het spanieltype in Nederland, dat wil zeggen rassen ingedeeld in rasgroep 7 paragraaf 1.2 (Lavrijsen et al., 2014). De predispositie bij teven, die tevens wordt waargenomen bij andere rassen (Malm et al, 2007; Lavrijsen et al, 2014) is in lijn met de voornaamste OR voor de minimale prevalentie. Deze aanleg zou kunnen worden verklaard door verschillen in groeisnelheid of geslachtshormonen of andere kenmerken die gekoppeld zijn aan de geslachtschromosomen. De niet-significante OR of voor de maximale prevalentie, echter, geeft het belang aan van onderscheid maken tussen beide soorten prevalentie. De positieve relaties tussen HD en lichaamsgewicht en tussen HD en leeftijd bij screening wordt gerapporteerd in vele andere studies (bijvoorbeeld (Malm et al, 2007;. Comhaire & Breuken, 2008;. Witsberger et al, 2008)). De relatie met leeftijd is niet verwonderlijk, aangezien het bekend is dat osteoartritis - een van de belangrijkste beoordelingscriteria van HD - erger wordt bij het ouder worden van een dier. Men moet echter voorzichtig zijn bij het interpreteren van de relatie met de leeftijd, omdat jonge dieren vaak worden onderzocht vanwege mogelijke inzet in de fokkerij en niet vanwege verdenking van HD. Oudere dieren worden vaak gescreend omwille van verdenking van HD. De relatie tussen leeftijd en HD zou daarom minder duidelijk kunnen zijn dan deze lijkt.

De prevalentie van ED was ook hoog in vergelijking met de prevalentie in andere hondenrassen in Nederland (Lavrijsen et al., 2014). Het hogere risico voor reuen werd eveneens gemeld voor een aantal andere rassen, net zoals bij de Nederlandse Labradors (Lavrijsen et al., 2014) en de Duitse Rottweilers (Beuing et al., 2000). De verdenking van een relatie met de leeftijd wordt ook waargenomen in eerdere studies (Mäki et al., 2000, Sturaro et al., 2005), evenals het verband tussen HD en ED (Mäki et al, 2000., Lavrijsen et al., 2014).

De waargenomen prevalentie van epilepsie valt in de onderste regio van de gerapporteerde bereik voor de algemene hondprevalentie van idiopathische epilepsie van 0,5-5% (Ekenstedt et al., 2012, Kearsley-Fleet et al., 2013, Koskinen et al., 2015). De predispositie gevonden voor reuen is in overeenstemming met de bevindingen in andere rassen (Kearsley-Fleet et al., 2013).

PDA wordt relatief vaak waargenomen in de Stabij in vergelijking met andere rassen waarin deze aangeboren hartziekte wordt gevonden (Oyama et al., 2010, Oliveira et al., 2011.). Het hogere risico voor teven, met een teef-reu OR van 2,7 zoals gemeld in de Italiaanse honden van verschillende rassen (Oliveira et al, 2011), werd niet gevonden in de Stabijhoun.

Van de Stabijhonden die werden gescreend op vWD-I, werd 11% getroffen door de aandoening als homozygoot en 58% is minder zwaar getroffen als heterozygoot. De prevalentie van de aandoening is dan ook matig tot hoog in vergelijking met andere rassen gescreend door het bedrijf vetGen (vetGen, 2005).

Middels simulaties werd aangetoond dat de monogenetische aandoening CD uit het ras kan worden geselecteerd binnen een korte periode en zonder aanzienlijke verhoging van de inteelttoename (in tegenstelling tot de vWD-I met de hogere allel-frequentie).

Selectie tegen polygene aandoeningen niet kon worden gesimuleerd met het Dog Breed Management programma. Dit zou echter van grote waarde kunnen zijn voor de rassen met meerdere polygene ziektebeelden.

6. Conclusie en aanbevelingen

De populatiestatus van en de genetische diversiteit in het Markiesje en de Stabij zijn verre van ideaal. Door middel van selectie en genetische bottlenecks is de genetische diversiteit aanzienlijk gedaald sinds het begin van de fokkerij van de rassen. Al vele decennia hebben beide populaties een inteeltpercentage dat overeenkomt met een onaanvaardbaar hoog risico op de accumulatie van erfelijke aandoeningen. Verschillende erfelijke aandoeningen zijn aanwezig in de honden die tegenwoordig geboren worden. Ondanks de daling van de inteeltpercentages in beide populaties, worden de rassen nog steeds beschouwd als zijnde in gevaar.

De belangrijkste oorzaak voor het onaanvaardbaar hoge inteeltgraad in het Markiesje bleek de kleine populatiegrootte. Daarom wordt het sterk aanbevolen om het aantal fokdieren te vergroten. De semi-openheid van het stamboek en het toelaten van meer look-alikes wordt beschouwd als de beste optie voor het vergroten van het ras, zonder een enorme toename van verwantschap. Het is daarom raadzaam te wachten met de internationale erkenning, die strengere regels zou betekenen, totdat het ras voldoende groot is. Het wordt aanbevolen om look-alikes te testen op hun verwantschap met het ras voor toelating in het stamboek. Wanneer het aantal beschikbare dubbelgangers beperkt is of wanneer look-alikes een hoge verwantschap met de stamboemdieren tonen, wordt aanbevolen de populatie te vergroten door systematisch uitkruisen met andere rassen.

Tijdens dit vergroten van de populatiegrootte is het verstandig zich te richten op verlenging van de generatie-interval, met name voor reuen, aangezien een langere interval een tragere inteelttoename als gevolg heeft, zodat het makkelijker wordt in het fokproces in te grijpen indien nodig.

Het belangrijkste probleem in de Stabijhoun bleek de sterke selectie die vooral in de beginjaren van het ras heeft plaatsgevonden (onder andere via het excessieve gebruik van populaire reuen) hetgeen heeft geresulteerd in een onvoorstelbaar hoge inteeltgraad, een zeer scheef verdeelde founderbijdrage, diverse erfelijke ziektes en een hoge verwantschap in de huidige populatie.

Systematisch uitkruising met andere rassen, of sturen op verwantschap, wordt aanbevolen om de (toename van) verwantschap te verminderen. Bovendien verdient het aanbeveling de algemene manier van fokken van de laatste 10 jaar te handhaven, aangezien het effectief lijkt bij het beperken van de inteelttoename. Ook moet uitwisseling tussen Stabijhounen uit verschillende landen worden gestimuleerd, vooral omdat deze subpopulaties klein zijn.

Naast de rasspecifieke aanbevelingen, wordt voor beide rassen aanbevolen:

- Behoud de huidige dekbeperkingen voor reuen. Bij de Stabijhoun hebben deze hun effect bewezen. Bij het Markiesje zijn ze ook effectief gebleken. In het licht van het vergroten van de populatie kan bij het Markiesje de restrictie per levensduur worden versoepeld van 5 tot 10 nesten.
- Minimaliseer de populatieverwantschap door het selecteren van fokdieren die minder dan gemiddeld gerelateerd zijn aan de rest van het ras. Hoewel een volledige fokprogramma moeilijk is uit te voeren, moet het gebruik van individuen die sterk gerelateerd zijn aan de meest invloedrijke founders (Pom en Rasta in Markiesje, Staby, Bruno, Autgertsje, Albert, Aukje in de Stabijhoun) worden beperkt.
- Ga verder met het selecteren tegen erfelijke aandoeningen. Selecteren tegen monogenetische aandoeningen bleek de inteeltgraad nauwelijks te verhogen (minder invloed door lagere allel frequentie). Strenge selectie tegen ernstige aandoeningen, zoals de neuropathologie in Markiesje en CD in de Stabijhoun, zijn dus gerechtvaardigd. Voor minder ernstige aandoeningen is het echter aan te raden om dragers beetje bij beetje uit te sluiten om verlies van diversiteit te voorkomen. Selectie tegen polygenetische aandoeningen bij de rassen heeft niet bewezen effectief te zijn en kon niet worden gesimuleerd. In de toekomst zouden technieken zoals genomic selection kunnen helpen om deze aandoeningen te bestrijden.

Een combinatie van de bovengenoemde aanbevelingen kunnen sterke verbetering van de situatie in beide rassen genereren; genetische diversiteit kan grotendeels worden gehandhaafd en de gezondheid en het welzijn van de honden kunnen verbeteren door het voorkomen van ernstige inteeltdepressie en het beperken van het optreden van erfelijke aandoeningen.

References

- Alam, M., J. Lee, H. Kang, I. Kim, S. Park, K. Lee and N. Kim (2007). "Frequency and distribution of patellar luxation in dogs-134 cases (2000 to 2005)." *Vet Comp Orthop Traumatol* 20(1): 59-64.
- Asher, L., G. Diesel, J. F. Summers, P. D. McGreevy and L. M. Collins (2009). "Inherited defects in pedigree dogs. Part 1: Disorders related to breed standards." *The Veterinary Journal* 182(3): 402-411.
- Barr, J. W. and M. McMichael (2012). "Inherited disorders of hemostasis in dogs and cats." *Topics in companion animal medicine* 27(2): 53-58.
- Bartolomé, N., S. Segarra, M. Artieda, O. Francino, E. Sánchez, M. Szczypiorska, J. Casellas, D. Tejedor, J. Cerdeira and A. Martínez (2015). "A Genetic Predictive Model for Canine Hip Dysplasia: Integration of Genome Wide Association Study (GWAS) and Candidate Gene Approaches." *PLoS ONE* 10(4).
- BBC One (2008). Pedigree dogs exposed. Television broadcast. Released on August 19, 2008
- Beuing, R., C. Mues, B. Tellhelm and G. Erhardt (2000). "Prevalence and inheritance of canine elbow dysplasia in German Rottweiler." *Journal of Animal Breeding and Genetics* 117(6): 375-383.
- Borge, K. S., R. Tønnessen, A. Nødtvedt and A. Indrebø (2011). "Litter size at birth in purebred dogs—A retrospective study of 224 breeds." *Theriogenology* 75(5): 911-919.
- Boyko, A. R., P. Quignon, L. Li, J. J. Schoenebeck, J. D. Degenhardt, K. E. Lohmueller, K. Zhao, A. Brisbin, H. G. Parker and B. M. Vonholdt (2010). "A simple genetic architecture underlies morphological variation in dogs." *PLoS biology* 8(8): 1948.
- Caballero, A. and M. A. Toro (2000). "Interrelations between effective population size and other pedigree tools for the management of conserved populations." *Genetical research* 75(03): 331-343.
- Charlesworth, B. and D. Charlesworth (2010). *Elements of Evolutionary Genetics*. Greenwood Village, United States of America, Roberts and Company Publishers
- Colleau, J.-J. (2002). "An indirect approach to the extensive calculation of relationship coefficients." *Genetics Selection Evolution* 34(4): 409-422.
- Collins, L. M., L. Asher, J. Summers and P. McGreevy (2011). "Getting priorities straight: risk assessment and decision-making in the improvement of inherited disorders in pedigree dogs." *Vet J* 189(2): 147-154.
- Comhaire, F. H. (2014). "The Relation between Canine Hip Dysplasia, Genetic Diversity and Inbreeding by Breed." *Open Journal of Veterinary Medicine* 2014.
- Comhaire, F. H. and F. Snaps (2008). "Comparison of two canine registry databases on the prevalence of hip dysplasia by breed and the relationship of dysplasia with body weight and height." *Am J Vet Res* 69(3): 330-333.
- Dooper, W. (2004). *De stabij: Bijke in alle opzichten*. Sneek, Dooper Publicaties.

Downs, L. M., R. Hitti, S. Pregolato and C. S. Mellersh (2014). "Genetic screening for PRA-associated mutations in multiple dog breeds shows that PRA is heterogeneous within and between breeds." *Veterinary ophthalmology* 17(2): 126-130.

Ekenstedt, K. J., E. E. Patterson and J. R. Mickelson (2012). "Canine epilepsy genetics." *Mammalian Genome* 23(1-2): 28-39.

Ensembl (2015). "Dog (*Canis lupus familiaris*): More information and statistics.". Retrieved on October 14, 2015, from www.ensembl.org.

Expertisecentrum Genetica Gezelschapsdieren (2014). Incidentie van schadelijke raskenmerken en erfelijke gebreken bij populaties van gezelschapsdieren. Utrecht, the Netherlands, Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine.

Falconer, D. S., T. F. Mackay and R. Frankham (1996). "Introduction to quantitative genetics (4th edn)." *Trends in Genetics* 12(7): 280. 57

FAO (2007). The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture: Part 4 section A. Rome, Food and Agriculture Organisation: Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture.

Fasanella, F. J., J. M. Shivley, J. L. Wardlaw and S. Givaruangsawat (2010). "Brachycephalic airway obstructive syndrome in dogs: 90 Cases (1991-2008)." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 237(9): 1048-1051.

FCI (2003). Procedure for the recognition of a new breed by the FCI. Dortmund, Germany, Fédération Cynologique International.

FCI (2015). "The FCI: Presentation of our organisation." Retrieved on 30 June, 2015, from www.fci.be/en.

Flückiger, M. (2007). "Scoring radiographs for canine hip dysplasia-The big three organisations in the world." *European Journal of Companion Animal Practice* 17: 135-140.

Freedman, A. H., I. Gronau, R. M. Schweizer, D. Ortega-Del Vecchyo, E. Han, P. M. Silva, M. Galaverni, Z. Fan, P. Marx and B. Lorente-Galdos (2014). "Genome sequencing highlights the dynamic early history of dogs." *PLoS Genet* 10(8).

Gibbons, S., C. Macias, M. Tonzing, G. Pinchbeck and W. McKee (2006). "Patellar luxation in 70 large breed dogs." *Journal of small animal practice* 47(1): 3-9.

Gubbels, E. J. (2012). Fokkerij en selectie van rashonden, een analyse. *Labrador post*. 48.

Gutiérrez, J. P., I. Cervantes, A. Molina, M. Valera and F. Goyache (2008). "Individual increase in inbreeding allows estimating effective sizes from pedigrees." *Genet. Sel. Evol* 40: 359-378.

Hoving, R. and H. F. Cnossen (2009). *Nederlandse hondenrassen: van Stabij tot Markiesje. Zeldzaam Huisdier, Stichting Zeldzame Huisdierrassen*. 34: 14-15

IEWG (2015). Proceedings: 29th annual meeting of the International Elbow Working Group Annual Meeting. Bangkok, Thailand, International Elbow Working Group.

- Ivy, J. A. and R. C. Lacy (2012). "A comparison of strategies for selecting breeding pairs to maximize genetic diversity retention in managed populations." *Journal of Heredity* 103(2): 186-196.
- Kearsley-Fleet, L., D. O'Neill, H. Volk, D. Church and D. Brodbelt (2013). "Prevalence and risk factors for canine epilepsy of unknown origin in the UK." *Veterinary Record* 172(13): 338.
- Kluth, S. and O. Distl (2013). "Congenital Sensorineural Deafness in Dalmatian Dogs Associated with Quantitative Trait Loci." *PLoS ONE* 8(12): e80642.
- Koskinen, L. L., E. H. Seppälä, J. M. Belanger, M. Arumilli, O. Hakosalo, P. Jokinen, E. M. Nevalainen, R. Viitmaa, T. S. Jokinen and A. M. Oberbauer (2015). "Identification of a common risk haplotype for canine idiopathic epilepsy in the ADAM23 gene." *BMC genomics* 16(1): 465.
- Lacy, R. C. (1989). "Analysis of founder representation in pedigrees: founder equivalents and founder genome equivalents." *Zoo Biology* 8(2): 111-123.
- Lacy, R. C. (1995). "Clarification of genetic terms and their use in the management of captive populations." *Zoo Biology* 14(6): 565-577.
- Lavrijsen, I., H. Heuven, G. Breur, P. Leegwater, F. Meutstege and H. Hazewinkel (2013). "Phenotypic and genetic trends of patellar luxation in Dutch Flat-Coated Retrievers." *Animal genetics* 44(6): 736-741.
- Lavrijsen, I., H. Heuven, B. Meij, L. Theyse, R. Nap, P. Leegwater and H. Hazewinkel (2014). "Prevalence and co-occurrence of hip dysplasia and elbow dysplasia in Dutch pure-bred dogs." *Preventive veterinary medicine* 114(2): 114-122.
- Leroy, G. (2011). "Genetic diversity, inbreeding and breeding practices in dogs: results from pedigree analyses." *The Veterinary Journal* 189(2): 177-182.
- Leroy, G. and R. Baumung (2011). "Mating practices and the dissemination of genetic disorders in domestic animals, based on the example of dog breeding." *Animal genetics* 42(1): 66-74. 58
- Leroy, G., T. Mary-Huard, E. Verrier, S. Danvy, E. Charvolin and C. Danchin-Burge (2013). "Methods to estimate effective population size using pedigree data: Examples in dog, sheep, cattle and horse." *Genetics Selection Evolution* 45(1): 1-10.
- Leroy, G. and X. Rognon (2012). "Assessing the impact of breeding strategies on inherited disorders and genetic diversity in dogs." *The Veterinary Journal* 194(3): 343-348.
- Lewis, T., S. Blott, D. Howard and J. Woolliams (2014). Building effective systems to manage inbreeding in pedigree dog breeds. 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. ASAS.
- Lewis, T., J. Woolliams and S. Blott (2010). "Optimisation of breeding strategies to reduce the prevalence of inherited disease in pedigree dogs." *Animal Welfare* 19(Supplement 1): 93-98.
- Lewis, T. W., S. C. Blott and J. A. Woolliams (2013). "Comparative analyses of genetic trends and prospects for selection against hip and elbow dysplasia in 15 UK dog breeds." *BMC genetics* 14(1): 16.
- MacCluer, J. W., A. J. Boyce, B. Dyke, L. R. Weitkamp, D. W. Pfenning and C. J. Parsons (1983). "Inbreeding and pedigree structure in Standardbred horses." *Journal of Heredity* 74(6): 394-399.

Mäki, K. (2010). "Population structure and genetic diversity of worldwide Nova Scotia Duck Tolling Retriever and Lancashire Heeler dog populations." *Journal of Animal Breeding and Genetics* 127(4): 318-326.

Mäki, K., A. Liinamo and M. Ojala (2000). "Estimates of genetic parameters for hip and elbow dysplasia in Finnish Rottweilers." *Journal of animal science* 78(5): 1141-1148.

Malm, S., E. Strandberg, B. Danell, L. Audell, L. Swenson and Å. Hedhammar (2007). "Impact of sedation method on the diagnosis of hip and elbow dysplasia in Swedish dogs." *Preventive veterinary medicine* 78(3): 196-209.

Mandigers, P. (2015). Personal communication on June 11, 2015.

Meuwissen, T. (1997). "Maximizing the response of selection with a predefined rate of inbreeding." *Journal of animal science* 75(4): 934-940.

Morris, D. (2002). *Dogs: The Ultimate Dictionary of Over 1,000 Dog Breeds*. North Pomfret, United States of America, Trafalgar Square Publishing.

Nederlandse Markiesjesvereniging (2015). "Rasbegeleiding: Fokreglement." Retrieved on July 10, 2015, from www.markiesjesvereniging.nl.

NVSW (2015a). "Fokken: Fok Advies Commissies." Retrieved on September 14, 2015, from www.nvsw.nl.

NVSW (2015b). "Stabijhoun: Geschiedenis." Retrieved on September 14, 2015, from www.nvsw.nl.

NVSW (2015c). "Stabijhoun: Gezondheid: Lees uitgebreidere informatie over Von Willebrand Disease, type I." Retrieved on September 26, 2015, from www.nvsw.nl.

NVSW (2015d). "Stabijhoun: Gezondheid: Lees uitgebreider informatie over cerebrale dysfunctie." Retrieved on September 26, 2015, from www.nvsw.nl.

NVSW (2015e). *Verenigingsfokreglement voor het ras Stabijhoun*, Nederlandse Vereniging voor Stabij- en Wetterhounen.

Oldenbroek, K. and L. van der Waaij (2015). *Textbook Animal Breeding and Genetics for BSc students*, Centre for Genetic Resources the Netherlands and Animal Breeding and Genomics Centre Wageningen University.

Oldenbroek, K. and J. Windig (2012). *Het fokken van rashonden: Omgaan met verwantschap en inteelt*. Amsterdam, the Netherlands.

Oliehoek, P. A., P. Bijma and A. van der Meijden (2009). "History and structure of the closed pedigreed population of Icelandic Sheepdogs." *Genetics Selection Evolution* 41(1): 39-59

Oliveira, P., O. Domenech, J. Silva, S. Vannini, R. Bussadori and C. Bussadori (2011). "Retrospective review of congenital heart disease in 976 dogs." *Journal of veterinary internal medicine* 25(3): 477-483.

OMIA (2016). "Homepage." Retrieved on January 8, 2016, from <http://omia.angis.org.au>.

- Ott, R. L. and M. Longnecker (2010). An introduction to statistical methods and data analysis. USA, Brooks/Cole, Cengage Learning.
- Oyama, M. A., D. D. Sisson, W. P. Thomas and J. D. Bonagura (2010). Congenital heart disease. In Ettinger S.J., Feldman E.C.: Textbook of Veterinary Internal Medicine. St. Louis, MO:, Saunders Elsevier.
- Parker, H. G. (2012). "Genomic analyses of modern dog breeds." *Mammalian Genome* 23(1-2): 19-27.
- Parker, H. G., L. V. Kim, N. B. Sutter, S. Carlson, T. D. Lorentzen, T. B. Malek, G. S. Johnson, H. B. DeFrance, E. A. Ostrander and L. Kruglyak (2004). "Genetic structure of the purebred domestic dog." *science* 304(5674): 1160-1164.
- Parra, D., D. García, S. Mendez, J. Cañon and S. Dunner (2010). "High mutation rates in canine tetranucleotide microsatellites: too much risk for genetic compatibility purposes?" *Open Forensic Science Journal* 3: 9-13.
- Paster, E. R., E. LaFond, D. N. Biery, A. Iriye, T. P. Gregor, F. S. Shofer and G. K. Smith (2005). "Estimates of prevalence of hip dysplasia in Golden Retrievers and Rottweilers and the influence of bias on published prevalence figures." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 226(3): 387-392.
- Patterson, D., R. Pyle, J. Buchanan, E. Trautvetter and D. Abt (1971). "Hereditary patent ductus arteriosus and its sequelae in the dog." *Circulation research* 29(1): 1-13.
- Pollinger, J. P., K. E. Lohmueller, E. Han, H. G. Parker, P. Quignon, J. D. Degenhardt, A. R. Boyko, D. A. Earl, A. Auton and A. Reynolds (2010). "Genome-wide SNP and haplotype analyses reveal a rich history underlying dog domestication." *Nature* 464(7290): 898-902.
- Pompe, V., H. Hopster and M. v. Dieren (2013). *Liefde maakt blind? Onderzoek naar waardenoriëntaties en waardenafwegingen van kopers/houders van 'risicovolle' dieren.* Leeuwarden.
- Pradit, W. and K. Nganvongpanit (2014). "Detection of DNA Markers in Dogs with Patellar Luxation by High Annealing Temperature-Random Amplified Polymorphic DNA Analysis."
- Priester, W. A. (1972). "Sex, size, and breed as risk factors in canine patellar dislocation." *J Am Vet Med Assoc* 160(5): 740-742.
- Raad van Beheer (2014). 'Fairfok': Projectplan gezonde en sociale hond in Nederland. Amsterdam, the Netherlands, Raad van Beheer op Kynologisch Gebied in Nederland.
- Raad van Beheer (2015). "Rashonden: Honden Stamboek." Retrieved on July 9, 2015, from www.raadvanbeheer.nl.
- Radar (2011). Rashonden. Television broadcast. Released on September 19, 2011
- Romijn, J. and I. Dirkse (2014). *Het Markiesje: Een oud Nederlands ras, Nederlandse Markiesjes Vereniging.*
- Sanchez-Molano, E. (2014). QTL Mapping for Canine Hip Dysplasia in UK Labrador Retriever. 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Asas.

Sargolzaei, M. and J. Colleau (2006). "Decomposing inbreeding and coancestry into ancestral components." Proc. 8th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., CDROM Communication: 27-28.

Sargolzaei, M., H. Iwaisaki and J. Colleau (2006). "CFC: A tool for monitoring genetic diversity." Proc. 8th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., CD-ROM Communication(27-28): 13-18.

Sargolzaei, M., H. Iwaisaki and J. J. Colleau (2005). "A fast algorithm for computing inbreeding coefficients in large populations." Journal of Animal Breeding and Genetics 122(5): 325-331. 60

Shaffer, L. G., C. J. Ramirez, K. Sundin, C. Carl and B. C. Ballif (2015). "Genetic screening and mutation identification in a rare canine breed, the Drentsche patrijshond." Veterinary Record Case Reports 3(1): e000185.

Shariflou, M. R., J. W. James, F. W. Nicholas and C. M. Wade (2011). "A genealogical survey of Australian registered dog breeds." The Veterinary Journal 189(2): 203-210.

Skoglund, P., E. Ersmark, E. Palkopoulou and L. Dalén (2015). "Ancient wolf genome reveals an early divergence of domestic dog ancestors and admixture into high-latitude breeds." Current Biology 25(11): 1515-1519.

Soontornvipart, K., C. Wangdee, M. Kalpravidh, A. Brahma, M. Sarikaputi, J. Temwichitr, I. Lavrijsen, L. Theyse, P. Leegwater and H. Hazewinkel (2013). "Incidence and genetic aspects of patellar luxation in Pomeranian dogs in Thailand." The Veterinary Journal 196(1): 122-125.

Sturaro, E., M. Ojala, K. Maki, G. Bittante, P. Carnier, G. Pedrani and L. Gallo (2005). "Results from an explorative screening program for elbow dysplasia in some breeds of dogs in Italy." Italian Journal of Animal Science 4(3): 233.

Summers, J. F., G. Diesel, L. Asher, P. D. McGreevy and L. M. Collins (2010). "Inherited defects in pedigree dogs. Part 2: Disorders that are not related to breed standards." The Veterinary Journal 183(1): 39-45.

Thalmann, O., B. Shapiro, P. Cui, V. Schuenemann, S. Sawyer, D. Greenfield, M. Germonpré, M. Sablin, F. López-Giráldez and X. Domingo-Roura (2013). "Complete mitochondrial genomes of ancient canids suggest a European origin of domestic dogs." science 342(6160): 871-874.

van Ederen, M. (2015). Personal communication on August 17, 2015

vetGen (2005). "Home: Canine: List of Services: Von Willebrand's Disease (vWD): vWD Type 1." Retrieved on November 29, 2015, from www.vetgen.com.

VHNC, V. H. N. K. (2015). "Het ras: Rasstandaard." Retrieved on August 24, 2015.

Voges, S. and O. Distl (2009). "Inbreeding trends and pedigree analysis of Bavarian mountain hounds, Hanoverian hounds and Tyrolean hounds." Journal of Animal Breeding and Genetics 126(5): 357-365.

Wangdee, C., P. Leegwater, H. Heuven, F. van Steenbeek, F. Meutstege, B. Meij and H. Hazewinkel (2014). "Prevalence and genetics of patellar luxation in Kooiker dogs." The Veterinary Journal 201(3): 333-337.

Wayne, R. K. (1993). "Molecular evolution of the dog family." Trends in Genetics 9(6): 218-224.

Windig, J. J., J. Oldenbroek and S. J. Hiemstra (2014). Optimizing genetic management within populations with a simulation tool. Proceedings 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production, August 17-22, 2014, Vancouver, Canada.

Witsberger, T. H., J. A. Villamil, L. G. Schultz, A. W. Hahn and J. L. Cook (2008). "Prevalence of and risk factors for hip dysplasia and cranial cruciate ligament deficiency in dogs." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 232(12): 1818-1824.

Zangerl, B., O. Goldstein, A. R. Philp, S. J. Lindauer, S. E. Pearce-Kelling, R. F. Mullins, A. S. Graphodatsky, D. Ripoll, J. S. Felix and E. M. Stone (2006). "Identical mutation in a novel retinal gene causes progressive rod–cone degeneration in dogs and retinitis pigmentosa in humans." *Genomics* 88(5): 551-563.

Zembla (2010). Einde van de rashond. Television broadcast. Released on December 11, 2010

Appendices

Appendix I. Markiesje: verdeling van algemene populatie parameters

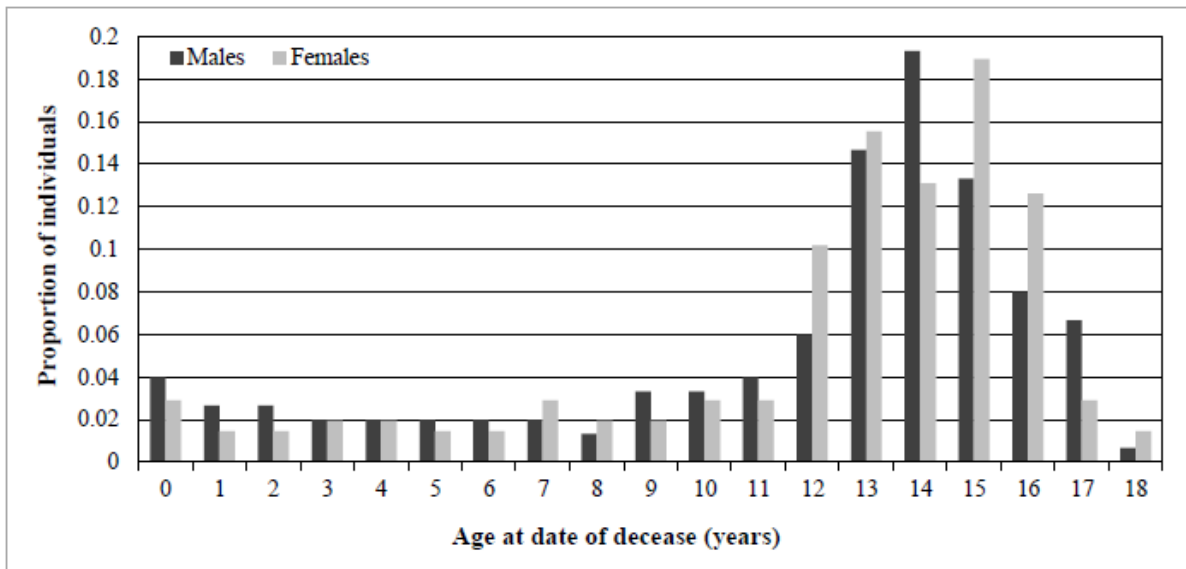


Figure I. Age of male ($n = 150$) and female ($n = 206$) Markiesjes born before 1998 at their date of decease

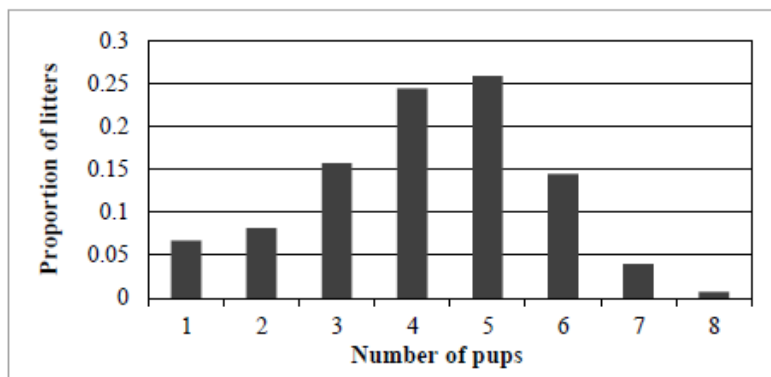


Figure II. Number of pups per litter ($n = 553$) for the Markiesje

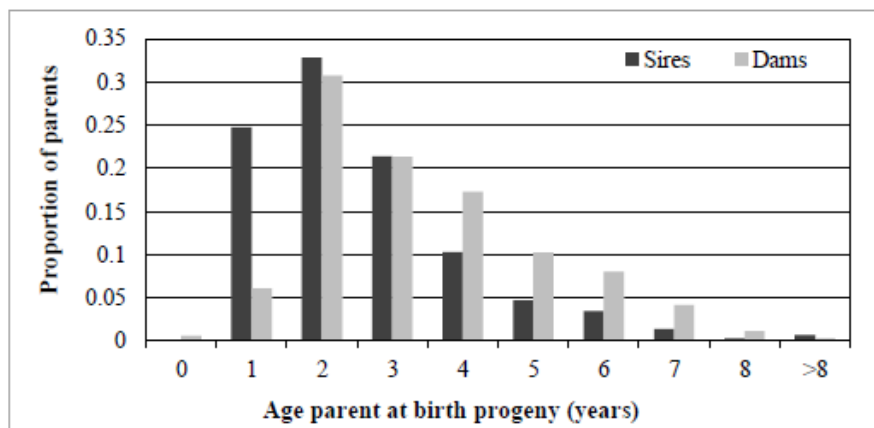


Figure III. Age of Markiesje sires ($n = 2318$) and dams ($n = 2318$) at the birth of their progeny

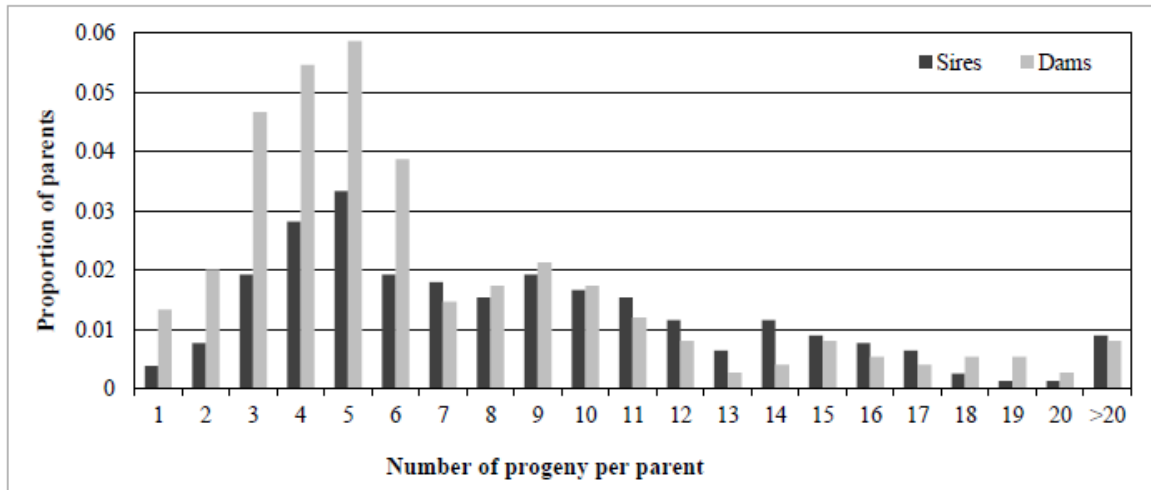


Figure IV. Number of progeny per sire ($n = 750$) and dam ($n = 780$) born before 2008. The proportion of Markiesjes without progeny was 0.74 for males and 0.63 for females (not shown).

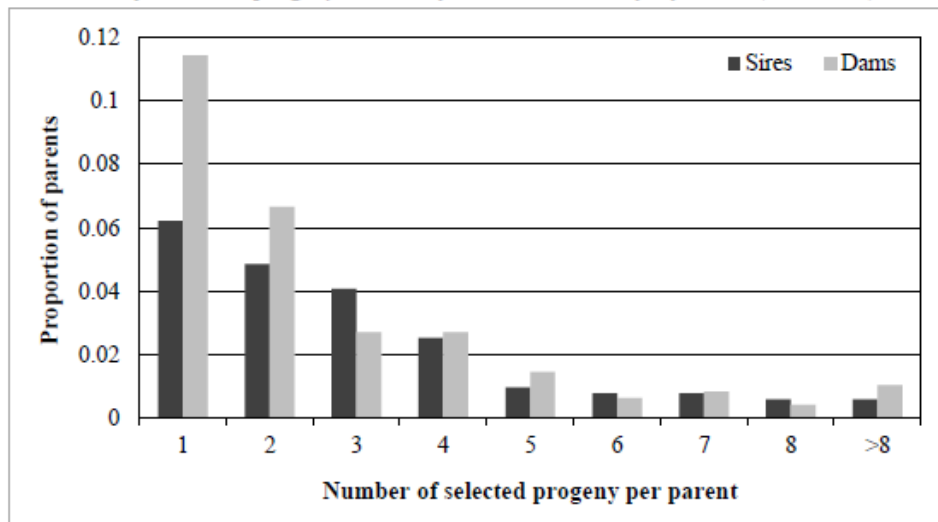


Figure V. Number of selected progeny per sire ($n = 515$) and dam ($n = 481$) born before 2002 for the Markiesje. The proportion of parents without selected progeny was 0.79 for sires and 0.72 for dams (not shown).

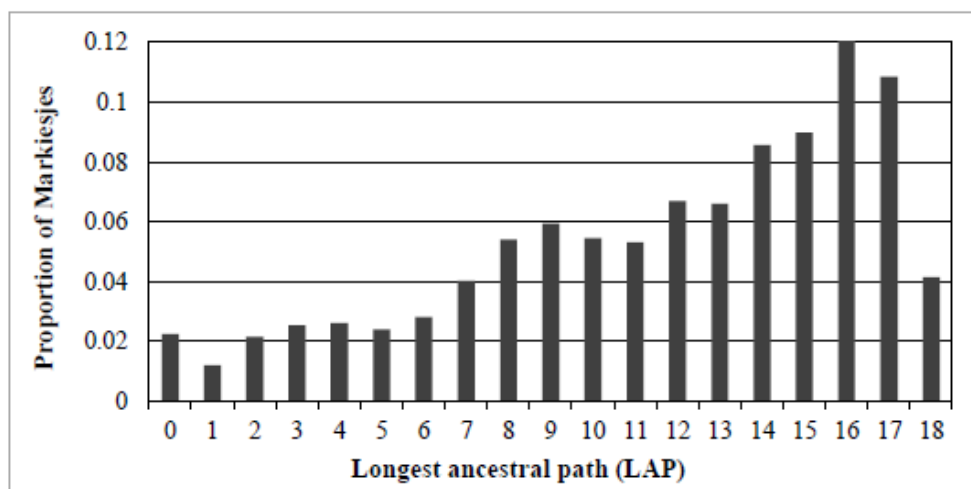


Figure VI. Longest ancestral paths (LAP) in the Markiesje

Appendix II. Markiesjes aangedaan door neuropathologie: ontleding van founderbijdragen

Table II.A. Nodal common ancestors (NCAs) of affected litters A up to D with a difference between the litter's partial inbreeding coefficient ($F_{ij,litter}$) and the average partial inbreeding coefficient of the reference population ($\bar{F}_{ij,ref}$) of more than 0.001 and/or a $F_{ij,litter}$ that is more than 2 times the $\bar{F}_{ij,ref}$. The j in F_{ij} represents the NCA and the i the inbred individual. The reference population consists of all unaffected individuals born since 2003, excluding the litter mates of affected individuals ($n = 1299$).

Litter	NCA ID	$F_{ij,litter}$	$\bar{F}_{ij,ref}$	$F_{ij,litter} - \bar{F}_{ij,ref}$	$F_{ij,litter} / \bar{F}_{ij,ref}$
A	348 G1	0.015625	0.004555	0.011070	3.43
	415 G2	0.007813	0.001309	0.006504	5.97
	242 GO	0.010986	0.006493	0.004493	1.69
	390 G2	0.003906	0.000577	0.003329	6.77
	477 G1	0.003906	0.002070	0.001836	1.89
	123 G0	0.003235	0.001806	0.001429	1.79
	108 G0	0.000137	1.49E-06	0.000136	92.19
	168 GO	0.000313	0.000149	0.000164	2.10
	B	713 G3	0.015625	0.000246	0.015379
557 G2		0.015625	0.004515	0.011110	3.46
284 G1		0.012207	0.009304	0.002903	1.31
400 G1		0.001953	0.000537	0.001416	3.64
448 GO		0.001953	0.000537	0.001416	3.64
459 G1		0.003906	0.002890	0.001016	1.35
168 GO		0.000420	0.000149	0.000271	2.82
295 GO		0.000244	0.000114	0.000130	2.14
108 G0		8.01E-05	1.49E-06	7.86E-05	53.78
C	242 GO	0.009979	0.006493	0.003486	1.54
	740 G2	0.003906	0.000713	0.003193	5.45
	459 G1	0.005859	0.002890	0.002969	2.03
	546 G3	0.003906	0.002569	0.001338	1.52
	211 G1	0.020233	0.018956	0.001277	1.07
	514 G2	0.001465	0.000728	0.000737	2.01
	371 G0	0.001160	0.000427	0.000733	2.72
	338 G1	0.000366	0.000107	0.000259	3.43
	456 G1	0.000244	3.31E-05	0.000211	7.38
	295 GO	0.000244	0.000114	0.000130	2.14
D	459 G1	0.010254	0.002890	0.007363	3.55
	211 G1	0.025112	0.018956	0.006156	1.32
	730 G3	0.003906	7.74E-05	0.003829	50.45
	701 G2	0.003906	7.83E-05	0.003828	49.90
	594 G2	0.003906	8.85E-05	0.003818	44.13
	665 G2	0.003906	0.000398	0.003509	9.82
	100 GO	0.009162	0.006450	0.002713	1.42
	284 G1	0.0116810	0.009304	0.002376	1.26
	242 GO	0.008633	0.006493	0.002139	1.33
	556 G2	0.000488	0.000167	0.000322	2.93
	111 GO	9.08E-05	2.79E-05	6.3E-05	3.26
	124 G0	9.08E-05	2.79E-05	6.3E-05	3.26

Table IIB. Continuation of table II: affected litters E and F

Litter	NCA ID	$F_{ij,litter}$	$\bar{F}_{ij,ref}$	$F_{ij,litter} - \bar{F}_{ij,ref}$	$F_{ij,litter} / \bar{F}_{ij,ref}$
E	1198 G3	0.015625	0.000232	0.015393	67.48
	880 G3	0.015625	0.000779	0.014846	20.06
	991 G4	0.007813	0.000457	0.007355	17.092
	950 G2	0.007813	0.000467	0.007346	16.73
	770 G2	0.007813	0.001482	0.006331	5.27
	741 G2	0.002930	0.000155	0.002775	18.94
	211 G1	0.021086	0.018956	0.00213	1.11
	415 G2	0.003204	0.001309	0.001896	2.45
	325 G1	0.000916	0.000202	0.000714	4.54
	547 G3	0.000732	0.000182	0.000550	4.02
	504 G3	0.000427	6.2E-05	0.000365	6.89
	572 G1	0.000244	1.12E-05	0.000233	21.88
	NIET GE	0.000231	0.000115	0.000116	2.00
	111 GO	7.89E-05	2.79E-05	5.1E-05	2.83
	124 G0	7.89E-05	2.79E-05	5.1E-05	2.83
F	1088 G3	0.015625	0	0.015625	x
	284 G1	0.013744	0.009304	0.004439	1.48
	978 G1	0.003906	0.000576	0.003330	6.78
	949 G2	0.003906	0.000674	0.003232	5.80
	1104 G2	0.003906	0.000893	0.003014	4.38
	726 G2	0.000977	0.000102	0.000875	9.58
	702 G2	0.000977	0.000260	0.000717	3.76
	775 G3	0.000977	0.000333	0.000644	2.94
	400 G1	0.001091	0.000537	0.000554	2.03
	448 GO	0.001091	0.000537	0.000554	2.03
	547 G3	0.000488	0.000182	0.000306	2.68
	666 G2	0.000244	6.96E-05	0.000175	3.51

Table III. Contributions of genes of founders to the gene pool (GP), average inbreeding coefficient (\bar{F}) and average coancestry (\bar{f}) of Marktesjed affected by the neuropathology and a reference group of Marktesjes born since 2003, excluding the litter mates of affected individuals. Only the founders with a higher contribution to the affected individuals than to the reference group are shown.

ID founder	Affected individuals (n = 11):			Reference group (n = 1299):			Difference			Factor different		
	GP _a	\bar{F}_a	\bar{f}_a	GP _r	\bar{F}_r	\bar{f}_r	GP _a - GP _r	$\bar{F}_a - \bar{F}_r$	$\bar{f}_a - \bar{f}_r$	GP _a / GP _r	\bar{F}_a / \bar{F}_r	\bar{f}_a / \bar{f}_r
445 GO	1.705	0	0.155	0	0	0	1.705	0	0.155	-	-	-
207 GO	1.705	0	0.213	0.042	0	1.3E-4	1.663	0	0.213	40.78	-	1698.94
341 GO	3.409	0	0.426	0.084	0	2.5E-4	3.325	0	0.426	40.78	-	1698.94
605 GO	2.699	0	0.249	0.838	6.2E-3	0.013	1.861	-6.2E-3	0.236	3.22	0	19.41
220 GO	1.332	0.058	0.186	0.490	5.7E-3	0.013	0.842	0.052	0.173	2.72	1.11	13.89
796 GO	3.480	0.053	0.347	2.546	0.051	0.110	0.934	1.9E-3	0.237	1.37	28.72	3.16
196 GO	2.945	0.177	0.405	2.416	0.142	0.190	0.530	0.035	0.215	1.22	5.00	2.13
242 GO	15.383	1.806	2.907	13.607	1.487	1.742	1.776	0.319	1.165	1.13	5.66	1.67
168 GO	5.017	0.664	1.024	4.545	0.634	0.717	0.472	0.030	0.306	1.10	22.46	1.43
106 GO	6.875	0.880	1.381	6.268	0.824	0.941	0.607	0.056	0.440	1.10	15.79	1.47
295 GO	2.406	0.110	0.284	2.254	0.069	0.116	0.152	0.041	0.169	1.07	2.67	2.46
448 GO	5.899	0.370	0.850	5.566	0.371	0.493	0.333	-3.3E-4	0.357	1.06	-1139.18	1.73

Appendix III. Stabijhoun: verdeling van algemene populatie-parameters

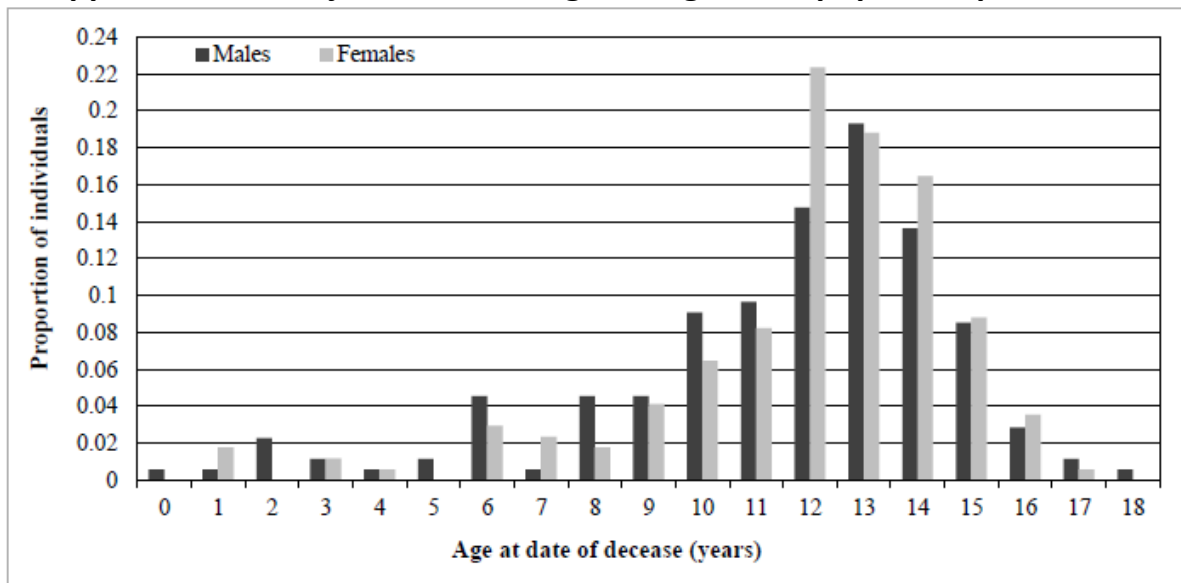


Figure VII. Age of male ($n = 176$) and female ($n = 170$) Stabyhouns born before 1998 at their date of decease

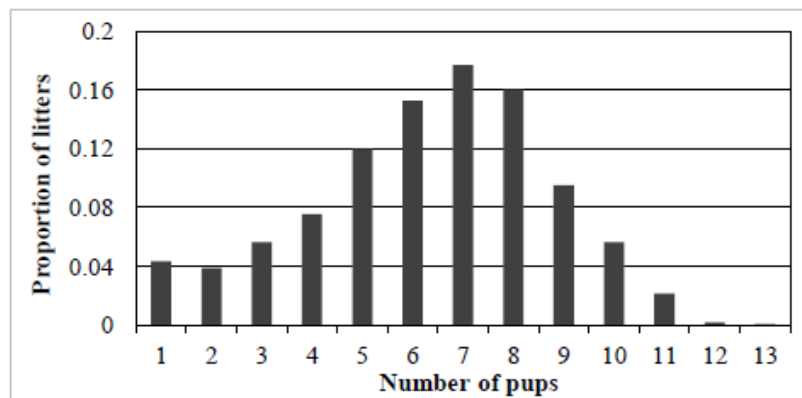


Figure VIII. Number of pups per litter ($n = 2634$) for the Stabyhoun

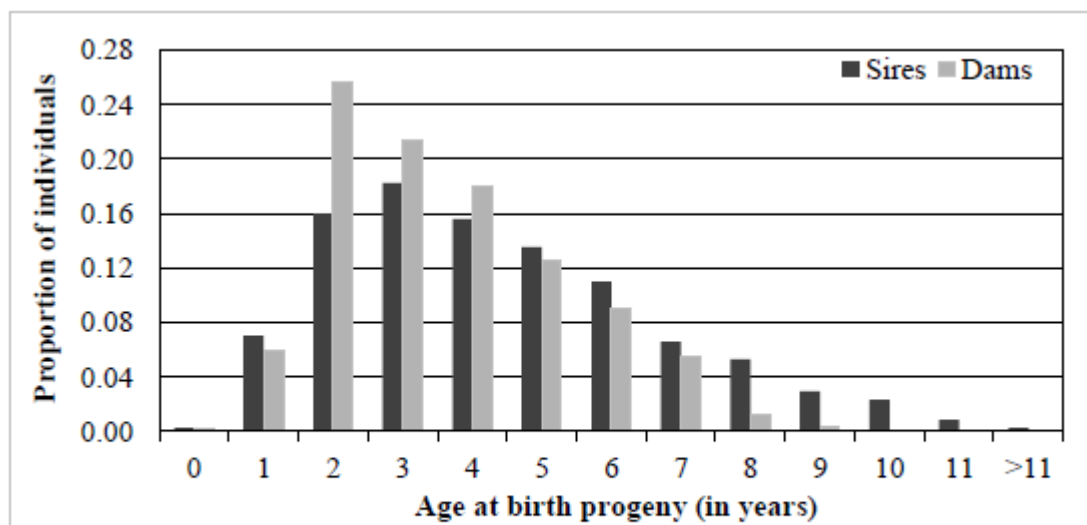


Figure IX. Age of Stabyhoun sires ($n = 16649$) and dams ($n = 16643$) at the birth of their progeny

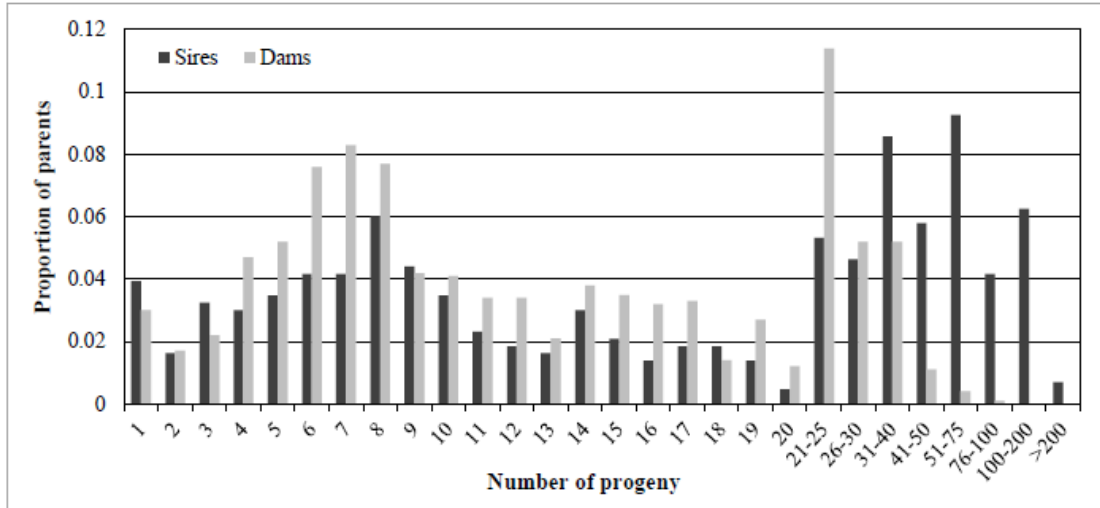


Figure X. Number of progeny per sire ($n = 432$) and dam ($n = 1001$) born before 2007. The proportion of Stabyhouns without progeny was 0.92 for males and 0.82 for females (not shown).

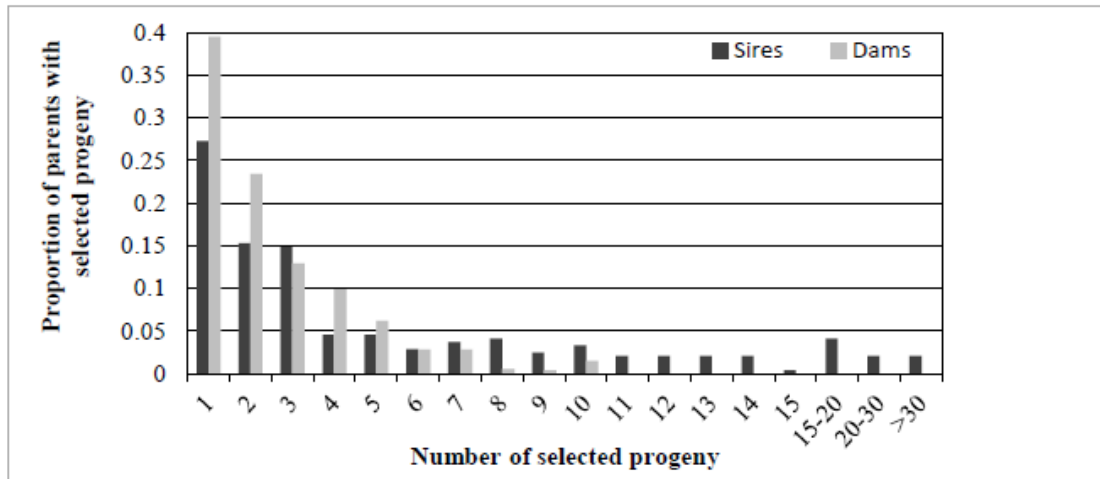


Figure XI. Number of selected progeny per sire ($n = 331$) and dam ($n = 795$) born before 2002 for the Stabyhoun. The proportion of parents without selected progeny was 0.27 for sires and 0.33 for dams (not shown).

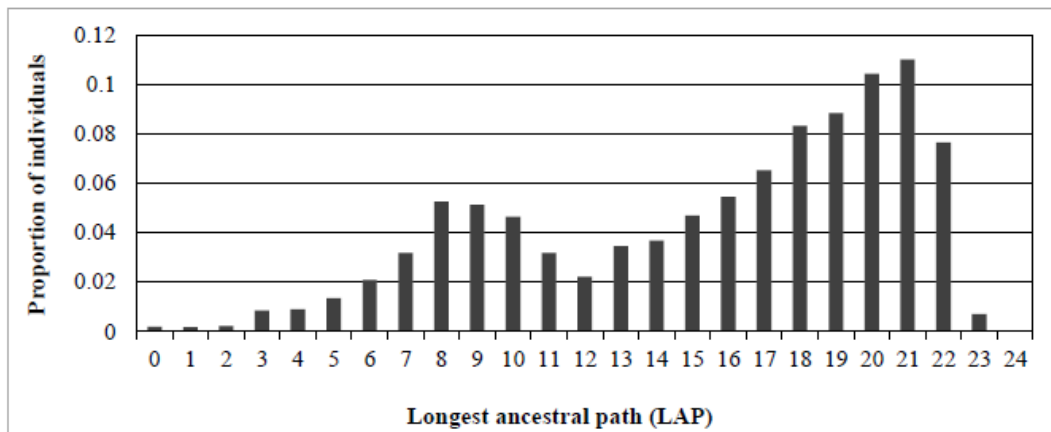


Figure XII. Longest ancestral paths (LAP) in the Stabyhoun ($n = 16679$)

Appendix IV. Dog Breed Management: input baseline simulaties

Table IV. Input values baseline simulation (no breeding restrictions, no population stratification and no simulated inherited disorders). Values were based on the

Parameter	Markiesje		Stabyhoun	
No. of simulated years	50		50	
No. of simulation runs	25		25	
No. of sires available / year	33		105	
No. of dams available / year	56		222	
No. of litters / dam / year	0.5		0.5	
Max litter size	8		11	
Fraction of litters per litter size				
1	0.07		0.04	
2	0.08		0.04	
3	0.16		0.06	
4	0.24		0.07	
5	0.26		0.12	
6	0.14		0.15	
7	0.04		0.18	
8	0.01		0.16	
9	-		0.10	
10	-		0.06	
11	-		0.02	
Max. parental age	9		11	
Fraction of parents per age (y)	Sires	Dams	Sires	Dams
1	0.25	0.07	0.07	0.06
2	0.33	0.31	0.16	0.26
3	0.21	0.21	0.18	0.21
4	0.10	0.17	0.16	0.18
5	0.05	0.10	0.14	0.13
6	0.03	0.08	0.11	0.09
7	0.01	0.04	0.07	0.05
8	0.01	0.02	0.05	0.02
9	0.01	0	0.03	0
10	-	-	0.02	0
11	-	-	0.01	0
Min. age dam (months)	18		18	
No. of popular sires	0		5	
% of offspring of these sires	0		11.0	
No. of breeding groups	1		1	
Sires per breeding group	33		105	
Dams per breeding group	56		222	
No. of (monogenic) disorders	0		0	
Max. no. of litters per dam / life	5		5	
Max. no. of litters per sire / y	500		500	
Max. no. of litters per sire / life	500		500	
Max. no. of sons per sire	500		500	
Max. relatedness parents	1.0		1.0	
Minimise relatedness parents	no		no	
Minimise relatedness parents below the average relatedness	no		no	
Max. COI parents	1.0		1.0	
Use of optimal contributions	no		no	
Use of initial A-matrix	no		no	
No. of group mating schemes	1		1	
Group name and fraction sires from own and other groups	first	1.0	first	1.0