

29 MAART 2016



Centrale Commissie Dierproeven

AVD 105002016464

Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website www.zbo-ccd.nl of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in 10500 <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie Rijksuniversiteit Groningen Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde [REDACTED] KvK-nummer 1179037
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer A. Deusinglaan 1 [REDACTED] Postbus [REDACTED] Postcode en plaats 9713 AV GRONINGEN IBAN NL45ABNA0474567206 Tenaamstelling van het rekeningnummer Rijksuniversiteit Groningen
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters [REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw. Functie [REDACTED] Afdeling [REDACTED] Telefoonnummer [REDACTED] E-mailadres [REDACTED]
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters [REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. Functie [REDACTED] Afdeling [REDACTED] Telefoonnummer [REDACTED] E-mailadres [REDACTED]

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- | | |
|-----------------------------|--|
| (Titel) Naam en voorletters | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie | |
| Afdeling | |
| Telefoonnummer | |
| E-mailadres | |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- Ja > Stuur dan het ingevulde formulier *Melding Machtiging* mee met deze aanvraag
- Nee

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3
- Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer
In en ga verder met vraag 2.2
- Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer
In en ga verder met vraag 2.3
- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier
- Nee > Ga verder met vraag 3
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- Nee > Ga verder met vraag 3
- Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|---------------|
| Startdatum | 28 - 4 - 2016 |
| Einddatum | 28 - 4 - 2021 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Alternative mechanisms of visual adaptation: evolutionary causes and consequences in cichlid fish
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- De rol van visuele aanpassing bij het ontstaan van nieuwe soorten
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|------------------------------|
| Naam DEC | DEC-RUG |
| Postadres | A. Deusinglaan 1, [REDACTED] |
| E-mailadres | secrdec.umcg@umcg.nl |

4 Betaalgegevens

4.1 Om welk type aanvraag gaat het?

Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1441 Lege

Wijziging € Lege

4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.

Via een eenmalige incasso

Na ontvangst van de factuur

Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.

5 Checklist bijlagen

5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?

Verplicht

Projectvoorstel

Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen, indien van toepassing

Melding Machtiging

6 Ondertekening

6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de bevestigde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:

- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
- dat de dieren worden gehulst en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam

Functie

Plaats

GRONINGEN

Datum

24-03-2016

Handtekening



Format Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Background and scientific importance:

Organisms can deal with environmental variation in two ways: evolutionary adaptation and phenotypic plasticity. Evolutionary adaptation proceeds by Darwinian selection favouring certain genotypes over others, changing the genetic composition of populations over subsequent generations. Phenotypic plasticity confers the ability to develop different phenotypes without the need for genetic change, allowing much faster phenotypic changes depending on the environment. In this project, we study the relative importance of these two mechanisms for species diversification and coexistence.

Phenotypic plasticity facilitates the colonisation of new niches, exposing populations to novel selection pressures that may initiate genetic divergence and eventually speciation. However, plasticity can also inhibit species divergence and coexistence, because it weakens selection for genetic differentiation. Also, a non-genetic basis of population differences may increase the vulnerability to environmental change. Consequently, plasticity has been suggested to promote as well as inhibit speciation.

Here, we propose to address this problem by directly comparing the effects of genetic and plastic changes to species persistence, diversification and coexistence. As a model system, we use the cichlid fish family which is famous for both phenotypic plasticity and rapid speciation. We focus on the visual system as our trait of interest, because visual adaptation is a major component of species divergence in aquatic environments ([REDACTED]), and visual systems are shaped by genetic factors as well as subject to environmental plasticity ([REDACTED]).

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Research question: How do different mechanisms of visual adaptation contribute to species divergence, persistence and coexistence in African cichlid fish?

Feasibility: this is a 5-year project involving several people (PhD students, postdoctoral staff, animal caretakers, molecular lab technician). All techniques are already being employed in our current research. We also have an extensive aquarium facility in which we are successfully keeping, breeding and studying cichlid fish. [REDACTED]

3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

Scientific importance: the relative importance of genetic and plastic mechanisms of adaptation for species formation and persistence are unknown. Progress requires integration of new techniques in (phylo)genetics with quantitative assessment of individual behaviour and fitness of animals in semi-natural contexts. Societal importance: Our limited understanding of the relationship between plasticity and biodiversity challenges our ability to predict how species respond to environmental change. The current scale of human-induced changes, i.e. global warming and habitat loss, make it even more urgent for biologists to understand this relationship.

Specifically, the cichlid fish of Lake Victoria have experienced major human-induced environmental changes due to eutrophication, the introduction of an invasive predator (Nile Perch), and overfishing. Many cichlid species have disappeared but some appear to adapt and persist. Species differences in the extent of plasticity may explain some of this variation: highly plastic species may have coped better than less plastic species. Visual performance is a major determinant of cichlid biology: they use visual cues to detect food, predators and mating partners. Because eutrophication dramatically changes under-water light conditions, the maintenance of visual performance is important for individual survival and mating behaviour - and thereby the risk of inter-specific hybridisation and species collapse. The role of visual plasticity in all of these processes is completely unknown. Here, we will test how visual plasticity contributes to individual survival and behaviour in a changing light environment. This will enable us to better predict how vulnerable species are to changes in underwater light conditions, which is important for developing adequate conservation measures.

In addition, our results may be used to improve aquaculture practices. Tilapia, also a cichlid species, is one of the most important food fish of the world (FAO 2005-2013 *Cultured Aquatic Species Information Programme*). Light conditions are known to affect its growth, survival and wellbeing, but current research effort is scarce and scattered (e.g. Volpato & Barreto 2001 *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*; Elnwshy et al 2012 *International Journal of Agriculture and Biology*). Our study could be the start of a more systematic approach, that benefits both fish welfare and aquaculture profitability.

3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

We focus on the African cichlids, taking advantage of well-documented species distributions, ecological niche characterisations and phylogenetic relationships (Wagner et al 2014 *Ecology Letters*). The project contains 4 parts: characterising 1) species-specific visual plasticity and 2) visual genotype, and testing the effects on 3) individual behaviour and 4) population persistence.

Part 1: Characterisation of visual plasticity

We will collect two measures of visual plasticity:

- a) Literature survey: for all species in the phylogeny (~650), we will determine their visual niche and categorize them as visual niche specialist or generalist. These data are available for nearly all cichlid species in the world, given that they are extensively studied by scientists as well as kept as pets (see e.g. Seehausen 1996 *Lake Victoria Rock Cichlids*; Deutsch 1997 *Biological Journal of the Linnean Society*; Konings 2015 *Tanganyika Cichlids in their Natural Habitat*).
- b) Experimental quantification: for a subset of species, we will measure visual pigment expression in fish raised under two different light conditions.

Part 2: Visual pigment genotyping

Since the effect of plasticity in pigment expression on visual performance depends on the visual pigment genes carried by an individual, we need to take

pigment genotype into account when selecting species for the experiments. For many species, these data are already available. If necessary, we will conduct additional sequencing for specific species of interest.

Part 3: Effects of visual adaptation on behaviour

The ecological and evolutionary consequences of visual adaptation operate through effects on individual behaviour. Therefore, for a subset of species, we will quantify the effects of visual genotype and visual plasticity on three visual behaviours that are important for species persistence: foraging performance, habitat choice and mate selection.

Part 4: Effects of visual adaptation on population persistence

We will study the population-level consequences of visual adaptation in mesocosms (experimental systems under semi-natural, controlled conditions), in which we monitor the growth, survival and spatial segregation of groups of juveniles of both high-plasticity and low-plasticity species and of different visual pigment genotypes.

3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

Part 1: Characterisation of visual plasticity

a) The literature survey does not require animal experiments.

b) Experimental quantification: for 18 species, we will quantify plasticity by rearing fish under two different visual conditions: broad-spectrum (B; representing shallow or clear waters) and yellow-shifted narrow spectrum (N; representing deeper, turbid waters), until they are sacrificed for measuring visual pigment expression. The difference between conditions provides a quantitative measure of visual plasticity. [REDACTED]

[REDACTED] and follows established procedures (e.g. Carleton 2011 in *Molecular Methods for Evolutionary Genetics*). The experiment is described in detail in appendix 1: quantifying plasticity.

Part 2: Visual pigment genotyping

For many species, visual pigment genes have already been sequenced. If necessary, we will conduct additional sequencing for specific species of interest. This entails cutting a small piece of fin (1 mm²) for DNA extraction and subsequent sequencing of nucleotide positions that are known to affect pigment absorption properties [REDACTED]

Part 3: Effects of visual plasticity on behaviour

We will select four species with high plasticity (based on Part 1) and breed additional families under the two light different light conditions (B and N). We will then conduct, under the same two light conditions, three different behavioural experiments.

a) habitat choice: we will present the fish with a choice between B and N light conditions.

b) foraging performance: we will quantify the feeding efficiency on live prey under both light conditions.

c) female mate choice: taking advantage of the colour variation in the cichlid family, we will present females with differently coloured males of closely related species, with the colour difference corresponding to the direction of the shift in visual sensitivity.

All fish will be PIT-tagged (Passive Integrated Transponder) for individual identification. In addition, fish will be finclipped for DNA sampling to confirm visual

pigment genotype (there may be genetic variation within species and we need to be sure of the pigment genotype of all individuals tested).

The experiments are described in detail in appendix 2: behavioural trials.

Part 4: Effects of visual adaptation on population persistence

We will select 3 species pairs with similar visual pigment genotypes, each consisting of a species with high plasticity and a species with low plasticity. We raise them under both B and N conditions for ~4 months. We then introduce groups of fish, from different species/rearing light combinations, into mesocosm ponds. Ponds will be illuminated with either B or N, or a combination of the two light treatments (BN). We will monitor growth and survival for 3 months by catching and measuring all fish every 2 weeks. Before and after the experiment, DNA will be collected. This serves two purposes: first, to confirm visual pigment genotype (if species are polymorphic, i.e. harbour multiple pigment genotypes) and second to identify individuals (to determine which individuals have died). After the experiment, fish will be sacrificed for visual pigment expression analysis. In addition, BN ponds will be equipped with antennas to register fish spatial position; for this purpose all fish in BN ponds will be PIT-tagged.

The experiment is described in detail in appendix 3: mesocosm experiment.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

The first step in the project is to categorize and quantify visual plasticity (Part 1). For both measures of plasticity, we will then conduct a phylogenetic analysis to test 1) whether visual plasticity facilitates the invasion of novel niches, as evidenced by higher plasticity in younger species; 2) whether the invasion of novel niches initiates species divergence, as evidenced by higher plasticity in species-rich lineages compared to species-poor lineages; and 3) whether plasticity in pigment expression predicts visual niche specialisation; in other words: does plasticity indeed confer the ability to exploit a broader range of environments?

Visual pigment genotyping (Part 2) will run in parallel. Genotype information will be used to select the species for quantifying plasticity. In addition, pigment genotyping will allow us to address:

- 1) The contribution of visual pigment sequence evolution to diversification: are certain pigment sequences associated with elevated speciation rates (indicating that pigment evolution enables visual niche expansion, that promotes subsequent divergence in other traits); and/or do speciation events coincide with pigment sequence changes (indicating that divergent sensory adaptation can drive speciation, as has been suggested for some cichlid taxa).
- 2) The evolutionary relationship between visual pigment sequence and visual plasticity: plasticity could diminish the 'need' for sequence changes, generating a negative relationship between pigment sequence diversity and plasticity across lineages, but may also amplify the effects of sequence changes, thereby accelerating divergent adaptation and generating a positive relationship. We will also test whether certain pigment genotypes are associated with higher levels of plasticity than others – which seems likely because the functional consequences of plasticity depend on the pigment genotype.

The data emerging from Parts 1 and 2 will determine what species will be used in Parts 3 and 4.

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

Volgnummer	Type dierproef
1	quantifying plasticity
2	behavioural trials
3	mesocosm experiment
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10500	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Rijksuniversiteit Groningen	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		1	quantifying plasticity

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Plasticity in visual development has been established in a few fish species, including cichlids (e.g. Fuller et al 2005 *J. Evolutionary Biology*; Shand et al 2008 *J. Experimental Biology*; Hofmann et al 2010 *Molecular Ecology*). However, previous studies have used artificial light conditions and thus do not allow realistic estimation of the extent of plasticity that would occur in nature. Moreover, between-species comparison requires standardised experimental procedures.

What is needed to understand the role of visual plasticity in cichlid evolution is a systematic analysis in a relatively large number of species, and using realistic visual conditions.

We select 18 species, representing both species-rich and species-poor lineages and different visual niches (broad-spectrum specialists; narrow-spectrum specialists; generalists).

We use light conditions that represent the two most distinct visual environments that cichlids experience in nature

██████████ broad spectrum (B) and yellow-shifted narrow spectrum (N). ██████████

██████████ and follows established procedures (e.g. Carleton 2011 in *Molecular Methods for Evolutionary Genetics*).

Fish will be reared under these conditions until they are sacrificed for measuring visual pigment expression. The difference between conditions provides a quantitative measure of visual plasticity.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Fish are bred by housing individual males with groups of females. When eggs are about to hatch (about 5

days), they are divided between B and N light conditions. They are kept there for 6 months (~sexual maturity). Every month, we randomly select 10 individuals from each species, 5 from each light condition, to be sacrificed (see below) for the analysis of visual pigment expression. The period of 6 months is chosen because the sensitive period for environment-induced effects on visual development is unknown, and therefore we expose the fish during the entire developmental period - but not longer than this because effects are less likely after reaching sexual maturity (Carleton et al 2008 *BMC Biology*). Sacrificing fish every month, rather than sacrificing all fish at the end, allows us to determine the developmental trajectory and thus maximises the information gained without increasing the number of individuals.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Number of species: Based on previous and ongoing studies, we expect substantial differences between species from different visual niches and different evolutionary histories. Thus, for each of our experimental categories (n=6 different combinations of visual niche and evolutionary history, see below) we include 3 species.

Number of individuals: previous studies have found plasticity effects ranging from zero to 14-fold increase or decrease in pigment expression (e.g. Hofmann et al 2010 *Molecular Ecology*; Smith et al 2012 *Genes Brain and Behaviour*). However, these studies used only 10 individuals per species, obtained from only one or two breeding families, i.e. mostly full-siblings. Developmental studies of opsin expression used 2-3 individuals per sampling point, and found large individual variation, even within families (O'Quin et al 2011 *Evolution and Development*). To make sure that our results are representative, we will use 5 individuals per sampling point, originating from at least 3 families per species. Thus, the number of families follows from 1) the number of required individuals; and 2) the consideration that genetically independent individuals generate results that are more representative for the species as a whole.

Regarding the statistical procedures, data will be analysed using Generalized Linear Mixed Models. This approach allows us to analyse all experimental factors (treatment, time point, species) in a single model, to control for family effects, and to aggregate the dataset at different levels (e.g. combining species, families, time points and treatments in order to estimate the effects of single variables).

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Species: Cichlid fish are chosen for this research because they inhabit different visual environments in nature and exhibit visual plasticity. The family has species-rich as well as species-poor lineages, providing a natural laboratory for testing evolutionary hypotheses. We focus on the African cichlids, because their species distributions, ecological niches and phylogenetic relationships are well-documented. We also choose cichlids because they do very well in the laboratory environment. They adjust rapidly to aquarium conditions, show natural behaviour and reproduce frequently. Species selection will be done based on phylogenetic analysis of visual niches.

Origin: We will work with F1 offspring of wildcaught fish. African cichlids are popular in the aquarium hobby and many species can be obtained from commercial exporters. For species that are difficult to obtain commercially, we will ask the assistance of the cichlid research community.

Numbers:

1) Number of species: we select 18 species for the experiments. We need to test species of each of the three visual niche categories (broad-spectrum specialists; narrow-spectrum specialists; generalists), representing both species-rich and species-poor lineages. Because 'lineage' is our unit of comparison when testing phylogenetic effects, we sample species-rich and species-poor lineages equally, with one species per lineage. This yields 6 different combinations. We use 3 replicates for each combination, yielding a total of 18 species.

2) Number of individuals: In order to achieve a robust estimate of pigment expression for each species, we estimate that we will need 5 individuals from each light treatment at each time point (O'Quin et al 2011 *Evolution and Development*). This yields a total number of 1080 fish (18 species * 2 light treatments * 6 sampling times * 5 individuals). Clutch sizes in African cichlids range from 20 to 120. For most species, 3 families will therefore be enough to produce the required sample size (60 per species); for species with small clutch sizes we will breed one or two additional families as needed.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welk keuzes daarbij zijn gemaakt.

Replacement: Not applicable; we are interested in the fish themselves and therefore need to study the live organism.

Reduction: even though it is easy to obtain many more families once the fish are breeding, we choose to collect only 3 families per species if this is enough to produce the required sample size; additional families will be bred only if needed.

Refinement: the experimental light conditions are within the natural range experienced by cichlid fish. Water quality and temperature will be continuously monitored. Fish will be fed with a diverse range of commercial pellets and flakes, frozen invertebrates and algae, and occasionally live food. Aquaria will have gravel substrate (several species tend to dig during foraging and territory settlement) and pvc tubes for shelter.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

In addition to the above, fish will be housed in groups which corresponds to the natural situation. If too much aggression is observed (see below), fish will be either housed individually, separated by transparent, perforated partitions to allow social behaviour, or group density will be increased by combining families of different species in the same tank. Low density is a well-known risk factor for aggression in cichlids.

Experiments will not have detrimental effects on the environment.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

We are very well connected to the cichlid research community and collaborate with the experts on the cichlid visual system. Comparison of visual development between alternative natural visual environments has not been done, not in cichlids and not in any other fish species.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Group housing may entail aggressive interactions, especially at low density.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

To a large extent, this is natural behaviour. However, in the confinement of an aquarium, the opportunities for subordinate individuals to escape are limited.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Fish welfare is monitored daily. Group densities will be kept sufficiently high (i.e. at least 6 fish per group). Also, tanks will contain shelters. If aggression leads to injury or weight loss, we will intervene (as explained above).

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

licht

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Visual pigment expression can only be measured by taking the retina out of the fish.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10500	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Rijksuniversiteit Groningen	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		2	behavioural trials

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Patterns of plasticity may tell us something about the mechanistic basis of traits, and are necessary for understanding how traits evolve. But to assess how plasticity affects speciation, we need to identify its consequences of for individual behaviour. This step is often missing in current studies of sensory variation, even though some changes are much more consequential than others, and may be environment-dependent. Therefore, we will select four species with high visual plasticity and explore the effects of visual plasticity on three specific behaviours that directly influence species divergence and persistence:

a) habitat choice: organisms use environmental cues to move towards favourable habitats. This phenomenon, despite its obvious evolutionary consequences, has long been ignored in the ecological and evolutionary literature but has recently regained attention (Edelaar & Bolnick 2012 *Trends in Ecology & Evolution*). Habitat choice contributes to the persistence of phenotypes that would otherwise be outcompeted and thereby contributes to the maintenance of biological diversity. Moreover, it effectively sorts phenotypes over habitats, which increases the extent of assortative mating between similar phenotypes. Through both these effects, habitat choice can play an important role in speciation. Sensory abilities are important determinants of habitat choice, as they influence an individual's perception of the environment and its performance.

a) foraging performance: sensory abilities determine the efficiency of food detection and capture. This implies that successful establishment in a new niche requires changes in sensory abilities, either plastic or genetic, which subsequently allow the exploitation of novel resources, contributing to survival. As a result, changes in sensory abilities may precede the evolution of specialised adaptations, such as feeding morphology.

b) female mate choice: in many animals, reproductive isolation between closely related species depends on

species-specific mate preferences for species-specific signals. This implies that changes in sensory abilities, by affecting the perception of these signals, could immediately affect patterns of assortative mating. In cichlid fish, male coloration is a major determinant of female mate preferences and changes in female colour perception directly affect the extent of species-assortative mating [REDACTED]

Outcome parameters: we will quantify the extent to which plastic changes in colour vision affect these three behaviours. Thus, after behavioural data collection all fish will be sacrificed for quantification of visual pigment expression.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

We will select four species with substantial plasticity (based on Part 1) and breed additional families under the two different light conditions (B and N). Once the fish have reached adulthood (~7-9 months), we will conduct, under the same two light conditions, the three behavioural experiments.

a) habitat choice

In a large tank (150*50*50 cm), we implement B and N light conditions, separated by an opaque partition with one large hole for the fish to swim through. Fish are introduced in small groups (4 individuals; these groups are the unit of analysis) and we record the time they spend on either side for a period of 1-2 hours. All groups will be tested 4 times, with alternating combinations of trial conditions (introduction side left or right; B condition implemented left or right). There will be at least one day in-between subsequent trials. Procedures are based on previous studies on fish habitat choice (Meager & Utne-Palm 2008 *Environmental Biology of Fish*; Rick & Bakker 2010 *Evolutionary Ecology*) as well as ongoing experiments in our own lab.

b) foraging performance

Fish are individually housed but with visual contact with at least one neighbour. We introduce a known number of live invertebrate prey (e.g. Daphnia, mosquito larvae or shrimp) and quantify prey capture for a period of 20 minutes. Fish are tested twice in each light condition, with light conditions changing the next day. Including a period of acclimation, fish will spend not more than 5 days in the setup. Procedures are based on previous experiments on fish foraging behaviour (Meager & Utne-Palm 2008 *Environmental Biology of Fish*; Rick & Bakker 2010 *Evolutionary Ecology*), [REDACTED]

c) female mate choice

In a large tank (150*50*50 cm), females are presented with two differently coloured males, behind transparent and perforated partitions. For 1 hour, we record all courtship behaviours of the males and the response of the female, [REDACTED]

Females are tested twice under both light conditions.

All fish will be PIT-tagged (Passive Integrated Transponder) for individual identification; they will be sacrificed after the experiments for analysis of visual pigment expression.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Determination of sample sizes (species, individuals) is based on the following considerations:

- 1) minimising the number of animals;
- 2) producing robust estimates of behavioural differences;
- 3) logistical restrictions: the time and space available to breed the animals and conduct the experiments.

The estimated number of individuals is the result of power analyses, using the results of previous and ongoing studies on cichlid visual behaviour ([REDACTED])

The number of families we use per species (3-5) is the result of two considerations: 1) the number of required individuals; and 2) the consideration that genetically independent individuals generate results that are more representative for the species as a whole.

Regarding the statistical procedures, data will be analysed using Generalized Linear Mixed Models. This

approach allows us to analyse all experimental factors (treatment, species) in a single model, to control for family effects, and to aggregate the dataset at different levels (e.g. combining species, families and treatments in order to estimate the effects of single variables).

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Species: Cichlid fish are chosen for this research because they inhabit different visual environments in nature and exhibit visual plasticity. The family has species-rich as well as species-poor lineages, providing a natural laboratory for testing evolutionary hypotheses. We focus on the African cichlids, because their species distributions, ecological niches and phylogenetic relationships are well-documented. We also choose cichlids because they do very well in the laboratory environment. They adjust rapidly to aquarium conditions, show natural behaviour and reproduce frequently. Species selection will be done based on phylogenetic analysis of visual niches.

Origin: We will work with F1 offspring of wildcaught fish. African cichlids are popular in the aquarium hobby and many species can be obtained from commercial exporters. For species that are difficult to obtain commercially, we will ask the assistance of the cichlid research community.

Numbers: for each species, we will use adult fish from 3 to 5 families (as in Part 1). These will be raised under experimental light conditions (see Part 1). To use the families efficiently we use both males and females, as follows: habitat choice experiments are done in groups including both sexes; given that males and females inhabit the same environment in nature we do not expect differences between them. Males will be used for foraging experiments; females will be used for mate choice experiments. For each experiment, we aim for $n=15$ for each light treatment:

habitat choice: 4 species x 15 groups x 4 fish per group x 2 treatments = 480 fish;

foraging: 4 species x 15 males x 2 treatments = 120 fish;

mate choice: 4 species x 15 females x 2 treatments = 120 fish;

Total $n= 720$ fish.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Replacement: Not applicable; we are interested in the fish themselves and therefore need to study the live organism.

Reduction: even though it is easy to obtain many more families once the fish are breeding, we choose to collect only 3-5 families per species to achieve the necessary number of individuals while maintaining a reasonable level of genetic diversity. The number of 720 individuals is a direct consequence of our aim to draw general conclusions, which requires adequate group sizes for multiple species/treatment combinations.

Refinement: the experimental light conditions are within the natural range experienced by cichlid fish. Water quality and temperature will be continuously monitored. Fish will be fed with a diverse range of commercial pellets and flakes, frozen invertebrates and algae, and occasionally live food. Aquaria will have gravel substrate (several species tend to dig during foraging and territory settlement) and pvc tubes for shelter.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op

nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

In addition to the above, fish will be housed in groups which corresponds to the natural situation. If too much aggression is observed (see below), fish will be either housed individually, separated by transparent, perforated partitions to allow social behaviour, or group density will be increased by combining families of different species in the same tank. Low density is a well-known risk factor for aggression in cichlids. Experiments will not have detrimental effects on the environment.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

We are very well connected to the cichlid research community and collaborate with the experts on the cichlid visual system. The behavioural consequences of visual plasticity have been addressed in only one study (Smith et al. 2012 *Genes Brain Behaviour*)- and this study looked at a context-independent behavioural measure of visual sensitivity (optomotor response). The effects of plasticity in the more natural contexts we use here have not been investigated.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke

wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Group housing may entail aggressive interactions, especially at low density.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

To a large extent, this is natural behaviour. However, in the confinement of an aquarium, the opportunities for subordinate individuals to escape are limited.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Fish welfare is monitored daily. Group densities will be kept sufficiently high (i.e. at least 6 fish per group). Also, tanks will contain shelters. If aggression leads to injury or weight loss, we will intervene (as explained above).

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

licht

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Visual pigment expression can only be measured by taking the retina out of the fish.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10500	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Rijksuniversiteit Groningen	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		3	mesocosm experiments

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Our goal is to understand whether and how visual adaptation contributes to species diversification. Specifically, we test the hypothesis that visual plasticity promotes speciation by facilitating the colonisation of novel visual niches and by niche segregation.

Our short-term behavioural experiments (Part 2) are required to study these mechanisms in detail, but are not sufficient to estimate the long-term fitness effects for individuals facing intra- and interspecific competition, as they would in nature. Therefore, we will conduct competition experiments in mesocosm communities, to quantify how visual plasticity and visual pigment genotype affect visual niche expansion and niche segregation. We hypothesise that visual plasticity contributes to survival in novel visual environments and induces visual niche segregation which promotes coexistence.

Outcome parameters: we will quantify growth, survival and spatial segregation in a community setting. We will then assess 1) whether species with high visual plasticity are at a competitive advantage and 2) whether they preferentially use the visual environment that they have adjusted to.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Using the visual plasticity data (Part 1), we will select species with high and low plasticity (total n=6 species). Juveniles of all species will be raised in the lab under both B and N conditions until ~4 months of age. We will then introduce these fish into the ponds, in which three different light environments will be implemented: broad-spectrum (B), yellow-shifted narrow spectrum (N), and a combined treatment (BN) in which each light regime covers half of the pond.

We will conduct two sets of experiments:

1) In B and N ponds, we will introduce about 30 individuals each of a high-plasticity and a low-plasticity species (i.e. 2x30 fish). In half of the ponds, the fish of both species will come from the same light treatment as the one implemented in the pond ("match" condition). In the other half, all fish will come from the other light treatment ("mismatch" condition). We will then monitor growth and survival by catching and measuring (length, weight) all fish every 2 weeks. We test the prediction that in novel visual environments, high-plasticity species outcompete low-plasticity species, using the "match" condition as control. Experiments will be replicated for at least 3 species pairs.

2) In NB ponds, we will introduce individuals from the same species pairs, but this time including fish from both rearing environments (i.e. 4x15 fish). We will monitor spatial segregation between the two light regimes to test the prediction that visual pigment expression plasticity influences niche segregation and community dynamics: in species with high plasticity, individuals from different rearing environments will segregate between the two visual zones, while low-plasticity species will not show such segregation. We also test whether growth and survival will be higher for high-plasticity species. These ponds will be equipped with antennas to register fish spatial position and all fish will be PIT-tagged (Passive Integrated Transponder).

Pond temperature will be kept at 24-26 °C. Temperature and water quality parameters will be monitored weekly. All ponds will be fitted with mesh inlays to facilitate catching the fish. On top of these inlays we put artificial shelters (PVC tubes) that will be removed before lifting the inlays for catching. Before and after the experiments, DNA will be collected. This serves two purposes: first, to confirm visual pigment genotype (if species are polymorphic, i.e. harbour multiple pigment genotypes) and second to identify individuals (in experiment 1 only: to determine which individuals have died). After the experiments, fish will be sacrificed for visual pigment expression analysis. Fish will be monitored daily; dead or sick individuals will be removed and sampled (see below).

The experiments will run for 3 months. This restricted period is chosen for the following reasons. 1) We will run the experiment in the summer months, when it is feasible to keep the ponds warm. 2) With a longer running period, the fish would reach sexual maturity and engage in territorial and reproductive behaviours. This could interfere with ecologically driven variation in behaviour and fitness, and may also cause welfare problems due to heightened aggression. 3) Running these experiments requires a major effort of the researchers, which can only be sustained for a restricted period of time.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Number of species: to compare low- and high-plasticity species, while controlling for visual genotype, we estimate that we need three species pairs. We think that this is a reasonable compromise between minimising the number of experimental animals and maximising the generality of our conclusions.

Number of individuals: there are no studies that have quantified the effect of visual plasticity on community-level processes. We aim for groups of about 60 individuals, based on the following considerations.

On the one hand:

- density should be high enough to induce competitive interactions;
- absolute numbers per group should be high enough to detect potentially subtle differences in growth and survival.

On the other hand:

- densities should be low because the ponds are not filtered continuously but will only have an air supply (water quality will be monitored). Groups of 60 fish translate to a density of about 1 fish per 50 liters of water, which is much lower than in our aquarium system (at least 10 liter per individual).

In addition:

- in aquaria, low fish densities can lead to aggression problems. We do not expect this in the ponds because we use juveniles and problematic aggression typically starts at sexual maturity. Also, ponds will have ample space to hide or stay away from aggressive individuals.
 - we have kept cichlids under similar conditions in Africa, when preparing to ship them to Europe. XXXXXXXXXX
-

Regarding the statistical procedures, data will be analysed using Generalized Linear Mixed Models. This approach allows us to analyse all experimental factors (treatment, species) in a single model, to control for family effects, and to aggregate the dataset at different levels (e.g. combining species, families and treatments in order to estimate the effects of single variables).

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Species: species selection will be done based on the results obtained in Part 1.

Origin: African cichlids are popular in the aquarium hobby and many species can be obtained from commercial exporters. For species that are difficult to obtain commercially, we will ask the assistance of the cichlid research community.

Numbers:

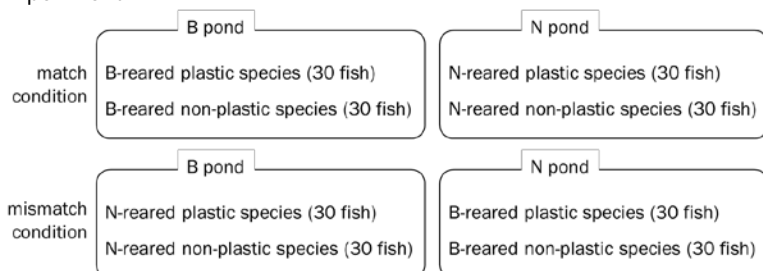
In Experiment 1, we introduce two groups of fish in each pond (see Figure below), originating from 2 species and raised in the same light environment (either B or N; see Part 1). To achieve a density of 60 individuals per pond, each group will consist of 30 fish. Each species tested will be represented in 2 match and 2 mismatch conditions, with each species combination tested 2x, thus requiring a total of 240 fish per species (2 replicates * 4 conditions * 30 fish). Clutch sizes in African cichlids range from 20 to 120; we thus expect that we need to breed 4-8 families. Experiments will be conducted for 3 species pairs, generating a total of 1440 fish (6 species * 240 fish per species).

In Experiment 2, both light conditions are implemented in each pond. We introduce four groups of fish into the ponds (see Figure below), originating from 2 species, and from both light environments (B and N). To achieve a density of 60 individuals per pond, each group will consist of 15 fish. Each species tested will be represented in 2 replicates, thus requiring a total of 60 fish per species (2 replicates * 4 conditions * 30 fish). To ensure genetic diversity, these will be generated by breeding 3 families. Experiments will be conducted for 3 species pairs, generating a total of 360 fish (6 species * 60 fish per species).

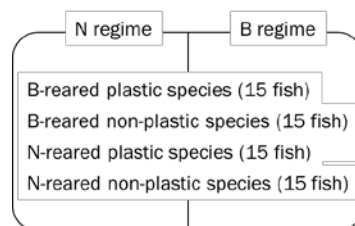
In both experiments, we will use both males and females; reproduction will not occur because fish are not yet sexually mature.

Grand total = 1440+360 = 1800 fish.

Experiment 1



Experiment 2



C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Replacement: Not applicable; we are interested in the fish themselves and therefore need to study the live organism.

Reduction: this experiment requires large numbers of fish in order to detect potentially subtle effects. Smaller group sizes would compromise our ability to find statistically significant results, and would also generate densities that are suboptimal for fish welfare. To minimise the number of animals, while at the same time allowing general conclusions, we use a limited number of species and replicates.

Refinement: the experimental light conditions are within the natural range experienced by cichlid fish. Water quality and temperature will be continuously monitored. Fish will be fed with a diverse range of commercial pellets and flakes, frozen invertebrates and algae, and occasionally live food. Both ponds and aquaria will have pvc tubes for shelter. Catching the fish every 2 weeks represents a compromise between maximising data collection and minimising stress for the fish.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

In addition to the above, fish will be housed in groups which corresponds to the natural situation. We do not expect problems of aggression, because this typically starts when the fish approach sexual maturity. At this time the fish will be housed in the ponds where there is ample space to hide or stay away from aggressive individuals.

Experiments will not have detrimental effects on the environment.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

We are very well connected to the cichlid research community and collaborate with the experts on the cichlid visual system. The effects of plasticity at the community level have not been investigated.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse

verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

As a result of suboptimal visual conditions (some fish are not well adapted to the light regime) and competitive interactions, some fish may experience stress and/or injury.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Suboptimal visual conditions (some fish are not well adapted to the light regime) and competitive interactions.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Fish welfare is monitored daily. Fish that are not doing well (see below) will be taken out of the ponds and sacrificed for analyses. These individuals will be included in the estimates of growth and survival.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Body condition: fish that are skinny and/or damaged due to aggression.

Behaviour: fish that stay at the water surface or that do not swim normally.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Based on our experience in previous and ongoing experiments in cichlids, in laboratory aquaria as well as outdoor ponds: 5%

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Fish that survive until the end of the experiment: licht

Fish that do not survive (dying in the pond or terminated during the experiment): matig.

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Visual pigment expression can only be measured by taking the retina out of the fish.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja

Format DEC-advies

Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de bijbehorende toelichting, waarin elke stap in het beoordelingsproces wordt toegelicht

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: (Intern RUG code **9009**)

Titel van het project: **Alternative mechanisms of visual adaptation: evolutionary causes and consequences in cichlid fish**


2. Titel van de NTS: **Verschillende mechanismen van visuele aanpassing: evolutionaire oorzaken en gevolgen in cichlide vissen**

3. Type aanvraag:

nieuwe aanvraag projectvergunning

4. Contactgegevens DEC:

naam DEC : **DEC-RUG**

telefoonnummer contactpersoon: 

mailadres contactpersoon : 

5. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):

- ontvangen door DEC: **10-02-2016**
- aanvraag compleet: **10-02-2016**
- in vergadering besproken: **18-02-2016**
- anderszins behandeld: **09-03-2016**
- termijnonderbreking(en) van / tot: **19-02-2016 tot 06-03-2016**
- besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen. **n.v.t.**
- aanpassing aanvraag: **06-03-2016**
- advies aan CCD: **15-03-2016**

6. Eventueel horen van aanvrager **n.v.t.**

- Datum
- Plaats
- Aantal aanwezige DEC-leden
- Aanwezige (namens) aanvrager

- Strekking van de vraag / vragen
- Strekking van het (de) antwoord(en)
- Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

7. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: **19-02-2016**
- Strekking van de vraag / vragen:
 - **Vragen/opmerkingen t.a.v. Bijlage 1 – Quantifying plasticity**
 - Waarom heeft men de gehele clutch size (50 expl.) nodig? Dit wordt niet (statistisch) onderbouwd. Kunt u dit beter onderbouwen?
 - Ook het aantal van 3 families per species wordt niet echt onderbouwd: *“it should be enough to detect () effects.”*. Kunt u dit beter onderbouwen?

Omdat de keuze voor zowel het aantal van 3 families per soort en 50 offspring per familie niet helder is, is de argumentatie dat er niet met minder vissen gewerkt kan worden (een van de drie V's) niet sterk.

- **Vragen/opmerkingen t.a.v. bijlage 2 – Behavioural traits**
- Ook hier is de argumentatie voor het aantal vissen niet echt helder. Zo wordt er gesteld dat 3 of 4 families per soort zullen worden gebruikt .. *as in Part 1..* terwijl in het betreffende deel van Part 1 sprake is van slechts 3 families.
- Graag een onderbouwing geven waarom de duur van de verschillende testen (habitat choice: 1-2 uur, foraging performance: 20 minutes, female mate choice: 1 hour) voldoende is.
- De onderbouwing van het aantal van 15 (groepen/mannetjes /vrouwtjes) is niet traceerbaar. Er wordt wel verwezen naar poweranalyses van voorgaand en lopend onderzoek: dat is wel erg mager.
- Reduction (onderdeel D): ook hier wordt gesteld dat 3 of 4 families wel voldoende zullen zijn om effecten te zien. Er mist een uitleg waarom het totaal aantal van 720 vissen niet minder kan zijn.
- **Vragen/opmerkingen t.a.v. bijlage 3 – Mecocosm experiments**
- Evenals in experimenten 1 en 3 is de onderbouwing van de aantallen niet duidelijk. Er worden nu 6-8 families ten tonele gebracht zonder uitleg waarop dit aantal is gebaseerd.
- Datum antwoord: **06-03-2016**

Strekking van het (de) antwoord(en): De gevraagde verduidelijkingen zijn verwerkt in het projectvoorstel en de bijlages. De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

8. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC) **n.v.t.**

- Aard expertise
- Deskundigheid expert
- Datum verzoek
- Strekking van het verzoek
- Datum expert advies

- Expert advies

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet) **Ja**.
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag. **Ja**.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren. **Ja**
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering. **NVT**.

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:
 - uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord **Ja**.
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) is / zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en). **Ja**.
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als **substantieel**.
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Naar de overtuiging van de DEC beschikt de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen om de projectdoelstelling met de gekozen strategie / aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren. **De aanvraag presenteert een onderzoeksstrategie waarin vier afzonderlijke en goed beschreven deelprojecten een gezamenlijk beeld over soortvorming zullen opleveren. De experimenten die zijn voorgesteld zijn goed opgezet, haalbaar en gangbaar in dergelijk onderzoek. De onderzoekers zullen gebruik maken van cichlide vissen, een groep vissen waarbinnen een grote soortdiversiteit bestaat en waarvan bekend is dat zowel genetische wijziging als fenotypische plasticiteit voorkomen. Zij zijn bovendien gemakkelijk in gevangenschap te houden en te kweken. Onderzoekers hebben veel ervaring met diverse onderzoekingen aan**

deze vissen. Een en ander blijkt uit opgenomen referenties

5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd. **De onderzoekers gebruiken gangbare diersoorten en behandelingen, de keuze hiervoor is wetenschappelijk voldoende onderbouwd**
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. **Ja, het ongerief is realistisch ingeschat**
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen. **Nee, dergelijk onderzoek gericht op het begrijpen van soortvorming kan alleen met levende organismen worden uitgevoerd.**
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren lijkt realistisch ingeschat. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. **Ja. Het aantal in de proeven in te zetten vissen is zorgvuldig vastgesteld en onderbouwd op basis van enerzijds het gebruik van zo weinig mogelijk dieren en anderzijds het minimum aantal dat vereist is om statisch betrouwbare en betekenisvolle resultaten te verkrijgen. Geslachten worden waar mogelijk in gelijke mate cq proportioneel ingezet. Geslacht speelt geen rol in die experimenten waar nog niet-geslachtsrijpe vissen worden gebruikt. Er wordt alleen vis gekweekt voor dit project en indien er te weinig vis beschikbaar is, wordt uit de markt gekocht.**
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de behandeling van de dieren zo humaan mogelijk wordt uitgevoerd. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten. **Ja. Het toepassen van lichtregimes die binnen de range van natuurlijke lichtomstandigheden vallen, continue omgevingsmonitoring (waterkwaliteit, temperatuur), huisvesting in zo natuurlijke mogelijke omstandigheden en toepassen van natuurlijke dichtheden in de opstellingen beperken het ongerief maximaal.**

10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd. **Ja**

D. Ethische afweging

Het project "Alternative mechanisms of visual adaptation: evolutionary causes and consequences in cichlid fish" betreft fundamenteel onderzoek naar het ontstaan van soorten. Hoe bepalend zijn evolutionaire aanpassing onder veranderende omstandigheden via een wijziging van de genetische samenstelling van een populatie en de plastische respons van individuen binnen deze soort? Het wetenschappelijke belang van dit onderzoek rechtvaardigen het gebruik van vissen en het ongerief dat deze dieren wordt aangedaan. Het is zeer waarschijnlijk dat de onderzoeksdoelen worden gehaald. Het onderzoek heeft tot doel onze kennis over het ontstaan van soorten te vergroten, met een focus op genetische wijziging en fenotypische plasticiteit. Het onderzoek is goed uitgewerkt in een duidelijke en navolgbare onderzoeksstrategie waarbij door gebruik te maken van een viertal deelprojecten de haalbaarheid wordt vergroot met een helder gedefinieerd go-no go moment. De zorgvuldige onderzoeksopzet heeft geresulteerd in het gebruik van een een tot het minimum beperkt aantal vissen. Het ongerief waaraan deze worden blootgesteld is voor het merendeel van de vissen licht; voor een kleiner deel matig. De opzet is zodanig gekozen dat pijn en stress tijdens de experimenten worden vermeden of tenminste zoveel mogelijk gereduceerd. Expliciet is aandacht gegeven aan het natuurlijke gedrag van de vissen in de experimenten: vissen worden in groepen getest onder (waar mogelijk) natuurlijke omstandigheden (mesocosms). De opzet en doeleinden rechtvaardigen het gebruik van de genoemde aantallen vissen en het daarbij beschreven ongerief. De onderzoeksgroep is zeker gekwalificeerd voor dit onderzoek. Zij beschikt over voldoende expertise om te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Per onderzoeksdoel is de wetenschappelijke navolgbaarheid goed in

beeld gebracht en zijn de aantallen benodigde dieren inzichtelijk onderbouwd. Technieken, aquarium faciliteiten en mesocosms worden recentelijk in lopend onderzoek gebruikt.

Naar de mening van de DEC-RuG is sprake van een toetsbare eenheid.

Op grond van alle voor de afweging relevante argumenten komt de DEC-RuG tot de conclusie dat dit onderzoek ethisch toets- en toelaatbaar is en derhalve adviseert zij de CCD tot vergunningverlening.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op **consensus**.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan
9713 AV GRONINGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD105002016464

Bijlagen

2

Datum 16 maart 2016

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte heer/mevrouw ,

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 15 maart 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD105002016464. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Factuur

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan kan uw aanvraag buiten behandeling worden gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u? Nieuwe aanvraag
 Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
 Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Over uw project

Geplande startdatum: 28 april 2016
Geplande einddatum: 28 april 2021
Titel project: Alternative mechanisms of visual adaptation: evolutionary causes and consequences in cichlid fish
Titel niet-technische samenvatting: De rol van visuele aanpassing bij het ontstaan van nieuwe soorten
Naam DEC: DEC-RUG
Postadres DEC: A. Deusinglaan 1, [REDACTED]
E-mailadres DEC: secrdec.umcg@umcg.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.441,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting
Overige bijlagen: Melding Machtiging
 DEC-advies

Ondertekening

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Plaats: GRONINGEN



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan

9713 AV GRONINGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD105002016464

Bijlagen

2

Datum 16 maart 2016

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 16 maart 2016

Vervaldatum: 15 april 2016

Factuurnummer: 16700464

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD105002016464	€ 1.441,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL41RBOS 056.999.6317 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A. Deusinglaan
9713 AV GRONINGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD105002016464
Bijlagen
1

Datum 26 april 2016
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Op 15 maart 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Alternative mechanisms of visual adaptation: evolutionary causes and consequences in cichlid fish" met aanvraagnummer AVD105002016464. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarde zoals genoemd in de vergunning. In het kader van vermindering wordt een algemene voorwaarde gesteld om te voorkomen dat dieren onnodig worden gebruikt. De algemene voorwaarde betreffende artikel 10, subid 1a van de wet wordt gesteld bij vergunningen met een langere looptijd. Dit om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel. U kunt met uw project "Alternative mechanisms of visual adaptation: evolutionary causes and consequences in cichlid fish" starten. De vergunning wordt afgegeven van 28 april 2016 tot 28 april 2021.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-RUG gevoegd. Dit advies is opgesteld op 15 maart 2016. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Dit advies van de commissie, nemen wij over,

inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering, met uitzondering van de voorwaarde zoals hierboven gemotiveerd. Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:



mr. drs. H.M. van der Gaag-Halbertsma
plv Algemeen Secretaris

Bijlagen:

- Vergunning
- Hiervan deel uitmakend:
 - DEC-advies
 - Weergave wet- en regelgeving

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Rijksuniversiteit Groningen
Adres: A. Deusinglaan
Postcode en plaats: 9713 AV GRONINGEN
Deelnemersnummer: 10500

deze projectvergunning voor het tijdvak 28 april 2016 tot 28 april 2021, voor het project "Alternative mechanisms of visual adaptation: evolutionary causes and consequences in cichlid fish" met aanvraagnummer AVD105002016464, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-RUG. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]. De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 15 maart 2016
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per op 15 maart 2016;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per op 15 maart 2016;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 15 maart 2016, ontvangen op 15 maart 2016.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Quantifying plasticity	Andere vissen (andere Pisces) / African cichlids; verschillende stammen	1080	Licht	
Behavioural trials	Andere vissen (andere Pisces) / African cichlids; verschillende stammen	720	Licht	
Mesocosm experiments	Andere vissen (andere Pisces) / African cichlids; verschillende stammen	1800	Matig Licht	

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 Wod zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.

In artikel 10, sublid 1a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister een ontheffing is verleend.

Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier

niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijvende schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand..

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13d volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13c is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.

De Minister heeft vrijstelling ontheffing verleend volgens artikel 13c, die de afwijkende methode van doden op basis van wetenschappelijke motivering ten minste even humaan acht als de in de richtlijn opgenomen passende methoden.

Van: Info-zbo
Verzonden: dinsdag 26 april 2016 15:54
Aan: [REDACTED]
Onderwerp: Terugkoppeling over projectvergunningsaanvraag AVD105002016464

Geachte DEC-RUG,

Op 15-03-2016 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project 'Alternative mechanisms of visual adaptation: evolutionary causes and consequences in cichlid fish' met aanvraagnummer AVD105002016464.

De CCD heeft de aanvrager geen aanvullende vragen gesteld.

We danken u voor uw advies en we koppelen graag het besluit van de CCD terug. De CCD heeft besloten de aanvraag toe te wijzen.

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.

Mocht u vragen hebben over onze beslissing, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

.....
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag
.....

T: 0900 2800028
E: info@zbo-ccd.nl