

<b>Inventaris Wob-verzoek W17-07</b>										
		<b>wordt verstrekt</b>				<b>weigeringsgronden</b>				
<b>nr.</b>	<b>document NTS 2016740</b>	<b>reeds openbaar</b>	<b>niet</b>	<b>geheel</b>	<b>deels</b>	<b>10.1.c</b>	<b>10.2.e</b>	<b>10.2.g</b>	<b>11.1</b>	
1	Aanvraagformulier				x		x	x		
2	Begeleidende brief aanvraagformulier				x		x	x		
3	NTS	x								
4	Projectvoorstel				x	x		x		
5	bijlage animal procedure				x	x		x		
6	Ontvangstbevestiging				x		x	x		
7	Verzoek om aanvullende informatie				x		x	x		
8	Reactie op verzoek om aanvullende informatie				x		x	x		
9	DEC advies				x		x	x		
10	Advies CCD		x						x	
11	Beschikking en vergunning				x		x	x		



## 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.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.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 80200 <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen															
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table><tr><td>Naam instelling of organisatie</td><td colspan="2">Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee</td></tr><tr><td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td><td colspan="2">[REDACTED]</td></tr><tr><td>KvK-nummer</td><td>41240385</td><td></td></tr><tr><td>Straat en huisnummer</td><td>Landsdiep</td><td>4</td></tr></table>	Naam instelling of organisatie	Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]		KvK-nummer	41240385		Straat en huisnummer	Landsdiep	4			
Naam instelling of organisatie	Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee																
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]																
KvK-nummer	41240385																
Straat en huisnummer	Landsdiep	4															
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>	<table><tr><td>Postbus</td><td>59</td><td></td></tr><tr><td>Postcode en plaats</td><td>1790AB</td><td>Den Burg</td></tr><tr><td>IBAN</td><td colspan="2">NL69ABNA0642374252</td></tr><tr><td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td><td colspan="2">St. NIOZ</td></tr></table>	Postbus	59		Postcode en plaats	1790AB	Den Burg	IBAN	NL69ABNA0642374252		Tenaamstelling van het rekeningnummer	St. NIOZ				
Postbus	59																
Postcode en plaats	1790AB	Den Burg															
IBAN	NL69ABNA0642374252																
Tenaamstelling van het rekeningnummer	St. NIOZ																
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td>[REDACTED]</td><td><input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.	Functie	[REDACTED]		Afdeling	[REDACTED]		Telefoonnummer	[REDACTED]		E-mailadres	[REDACTED]	
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input checked="" 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.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td></td><td><input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td></td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td></td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters		<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.	Functie			Afdeling			Telefoonnummer			E-mailadres		
(Titel) Naam en voorletters		<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.															
Functie																	
Afdeling																	
Telefoonnummer																	
E-mailadres																	

- 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  Dhr.  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 1 - 4 - 2017
- Einddatum 1 - 4 - 2022
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- The Ontogeny of Migratory Routines in Red Knots
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- De ontwikkeling van migratie routines in kanoeten
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC
- Postadres
- E-mailadres

## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1035,- Lege  
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.  
*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.*  
 Via een eenmalige incasso  
 Na ontvangst van de factuur

## 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 beveiligde 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 gehuisvest 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	[REDACTED]
Functie	[REDACTED]
Plaats	't Horntje
Datum	11 - 1 - 2017
Handtekening	[REDACTED]



06 FEB 2017

Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee

Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee (NIOZ)  
Landsdiep 4  
1797 SZ 't Horntje (Texel)

Centrale Commissie Dierproeven (CCD)  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag

Datum: 2-2-2017

Betreft: Aanvraag projectvergunning

Geachte Heer/Mevrouw,

Bijgaand vindt u de documenten voor het aanvragen van dierproef met projectnummer: **NIOAVD802002016740 (2016-001)**. Ingediend door het Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee (NIOZ). In deze envelop bevinden zich de onderstaande formulieren:

- Aanvraag projectvergunning dierproeven, administratieve gegevens
- Format Projectvoorstel dierproeven
- Bijlage beschrijving dierproeven
- Format Niet-technische samenvatting
- Format DEC-advies
- Correspondentie DEC d.d. 28 december 2016

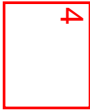
Ik hoop u hiermee voldoende te hebben ingelicht en dat dit de benodigde stukken zijn voor de beoordeling door de CCD. Mochten er nog stukken ontbreken of vragen zijn hoor ik dat graag.

Met vriendelijke groeten,

[Redacted signature]

Namens:

Koninklijk Nederlands [Redacted]  
Afdeling Kustsystemen (COS)  
Landsdiep 4  
1797 SZ 't Horntje (Texel)



## 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](http://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 'hogere onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

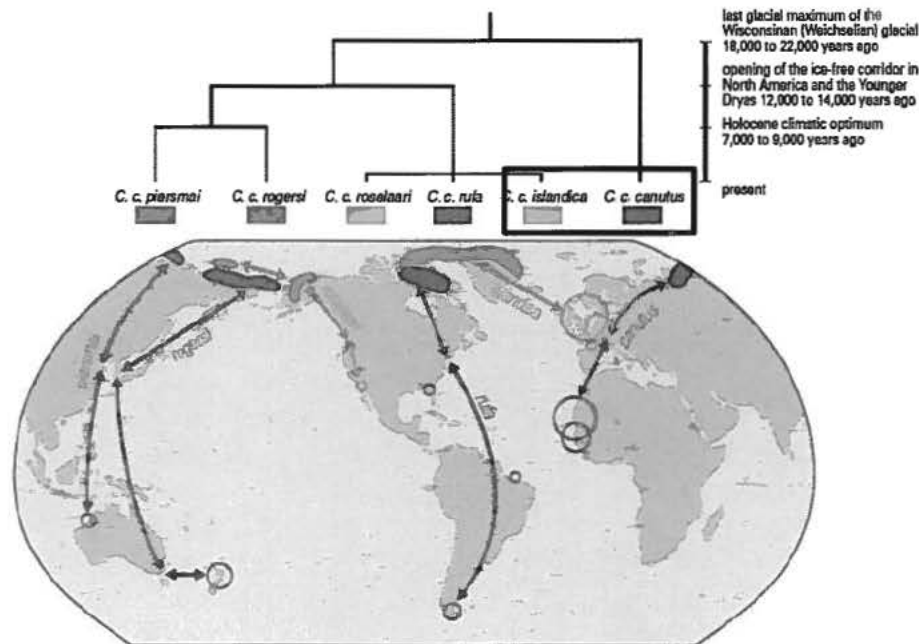
The extended evolutionary synthesis (EES) proposed by Laland and colleagues (2015) is a broader evolutionary framework outstepping the classical genetic framework. These authors propose a relation of co-construction between organisms and the environment that could explain for a much faster adaptive ability of populations than the classic genetic framework based on mutations and selection could account for. And it is especially during processes of individual development that rapid adaptation to environmental changes are expected.

For several decades our research group has now been working on red knots (*Calidris canutus*), gaining knowledge on their diet, habitat preferences, survival rates and annual routines of adults [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED]. Red knots are long distance seasonal migrants that experience very different environmental conditions throughout the annual cycle while they migrate between their arctic breeding grounds and southerly wintering grounds. In order to migrate successfully and cope with these varying environmental conditions along the way knots go through a series of circannual physiological changes. While a relatively simple and small digestive system is sufficient to forage on soft prey (insects) on the breeding grounds, knots build up a strong muscular stomach during winter when they forage on buried molluscs that they swallow whole. At times of migration birds need to store fuel in the form of fat and the size of the digestive system is then minimized to reduce ballast while flight organs (such as the pectoral muscle) increase in size [REDACTED].

Earlier research by Bijleveld et al. (2014) showed that in knots the size of the stomach (called gizzard) is negatively correlated with exploration behaviour, both in the lab and in the field and that, contrary to expectations, individual personality drives the gizzard size. These authors described that knots show consistent individual differences in exploration behaviour that are often referred to as personalities. They describe that personality drives physiological adjustments, particularly gizzards size, in a way that physiological adjustments mitigate the cost of free living explorative behaviour. This is an indication that birds with different personalities (or preferences) select for different foraging conditions to which they physiologically adapt. They propose that the consistent behavioural differences are probably shaped by experiences gained at a young age. If immature knots indeed have a flexible period in early development it is during this stage that personalities are expected to develop (Bijleveld et al. 2014). Here we want to investigate the development if these personalities and how these different personalities may develop different seasonal migration routines or show a different development of migration routines.

The research at our institute historically focusses on two subspecies the *Calidris canutus islandica* (*islandica*) and *Calidris canutus canutus* (*canutus*) that are both found in the Dutch Wadden Sea during set times of the year. Knots of the *islandica* subspecies breed in the high arctic tundra of Canada and Greenland and winter in the Wadden Sea while knots of the *canutus* subspecies breed in northern Russia and winter in western Africa but it makes short term refueling stops during Northward and Southward migration in the Dutch Wadden Sea. It is during these two periods before and after breeding that both subspecies co-occur in the same area.

From earlier work by Buehler et al. 2006 we know that subspecies of the red knot are genetically very similar and show a very recent genetic bifurcation. Although the two subspecies are genetically very similar, share common predators and food resources and co-occur on the same wintering-/staging site (the Wadden Sea) they show very distinct migratory patterns (fig. 1). Although we don't know how many genes are supposed to be different to explain these differences between subspecies based on the classical genetic framework based on random mutation and natural selection alone these differences could never have evolved in such a short period of time. An explanation for the high rate of variation between recently parted (sub-) species could be that developmental processes together with natural selection influence the direction and level of adaptation. The great similarity between the two subspecies in combination with the differences in migratory experience between the two subspecies provide us with a unique system to explore the effect of environment and experience on the development of migratory routines.



Buehler, Baker, Piersma (2006) *Auk* 94, 485-498.

Figure 1 Global distribution of knot subspecies and their lineage tree. In red the focal subspecies of this project.



It is most likely that also genetic components are involved in consistent individual differences in behaviour, but the likely candidate genes that may underlie these in Red Knots are unknown to date. Investigating the genetic basis of personalities is beyond the scope of this project, instead we will focus on the effect of early life experience on consistent individual differences in (migratory) routines. Very rarely birds that are of known subspecies (by color ring identification) are seen at locations along the 'wrong' flyway. There are for example two records of birds that are ringed in winter in Western Europe (when only knots of the *islandica* subspecies are supposed to be present) are recovered in Poland during autumn migration (along the *canutus* flyway).

Since *islandica* knots are generally not supposed to occur along this part of the Baltic coast there are three possible explanations for their presence. Firstly, these birds officially belong to the *canutus* subspecies and wintered in Western Europe on the previous year. Secondly, that they do belong to the *islandica* subspecies but that they came from the Siberian breeding grounds this year. Or thirdly, that they are simply *islandica* knots that 'overshoot' the Wadden Sea and are now making a little detour along the Baltic coast (Meissner & Gromadzka 2006). Similarly, a handful of knots ringed in Mauretania (*canutus* subspecies) have been seen in Iceland and Northern Norway (*islandica* flyway) (J. ten Horn & J. Wilson, pers. communication).

It is these kind of observations that make us wonder how consistent knots are in their migratory routines, and how these routines get shaped. This is in line with the EES that holds that organisms are not simply programmed by genes but coevolve with their environment. We believe that early experience shapes individuals and therefore it may be due to happenings during early age that we expect individuals to develop new routines when confronted with environmental changes. When scaling up to the population or even subspecies level, individual adaptations may lead to the development of new migratory routines. With the increasing threat of anthropogenic disturbances and climate change at the wintering- and breeding grounds of the knots, it is important to understand the shaping of these routines and to investigate how flexible species are in adjusting their annual routines to variations in their environments. The knowledge of the (in-) flexibility of knots to adjust to these changes may aid directly in formulating protection plans.

Because knots reproduce in a, for humans, very remote and inhospitable terrain the ontogeny of the adult routines in red knots is a major gap in knowledge. Recently we have access to small solar satellite tags which enables us to study the development of movement and timing of routines of free-living knots from an early age onwards (Chan et al. 2015). Therefore it is time to start a project on the development of migratory routines in red knots.

### 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?

Our main objective is to disentangle genetic and learned components of migratory routines and we will use the natural difference in global distribution between the *islandica* and the *canutus* subspecies to do so. In this project we designed a series of lab- and field experiments to investigate how experience shapes individual behaviour. We will do so at two different levels. Our **first research objective** focuses on how migratory routines in knots are influenced by experience gained during their first southward migration and subsequent winter. When first year *islandica* juveniles reach the Wadden Sea, our study area, they

have already completed their first southward migration. *Canutus* juveniles on the contrary, are supposed to travel to West Africa after a short stop over and are thus only half way when they get to the Wadden Sea. We will manipulate the experience of first year juveniles from the *canutus* subspecies by preventing them from moving south to their original wintering ground in Mauretania. Instead we retain them in flocks mixed in with birds of the *islandica* subspecies in our experimental facilities in the middle of the wintering ground of the *islandica* subspecies in the Dutch Wadden Sea. Consequently, one may argue that we 'imprinted' them on an *islandica* flyway (if there is such a thing as migrational imprinting). After respectively one and two years of captivity the temporarily displaced *canutus* knots will be released with PTTs (Platform Terminal Transmitter) to follow their subsequent migratory movements.

The **second research objective** aims at elucidating how earlier experience shape consistent individual differences in behaviour (i.e. personalities). Following Bijleveld et al. (2014) we want to investigate how diet manipulation (and consequent physiological adjustment) effect exploration behaviour during a novel environment test. In order to investigate if personalities are indeed shaped by experience, and if so, how and when these personalities get fixed, we will take this a step further by including birds of two age categories (adults and juveniles). Consequently we will be able to study how birds with different levels of experience differ in exploration behaviour in response to changes in food source. We hypothesize that adult birds are already fixed in their behaviour (due to the accumulation of experience) and that they will show consisted behaviour independent of their diet. We expect that juveniles are not yet fixed in their behaviour and are still susceptible to change as a result of changes in their foraging experiences. In practice this means that juveniles will show greater within-individual variation in exploration behaviour, i.e. have less consistent personalities than adults or even show a lack of consistent individual behaviour, but that their consistency may grow over course of the project.

On the between subspecies level we will compare personalities of adults of the two subspecies. If personalities are indeed shaped by earlier experiences it is possible that the subspecies fundamentally differ in personality due to the fact that their different global distribution provides for the accumulation of very different life experiences before capture. Earlier work on free living knots revealed preliminary evidence indicating that birds of the *canutus* subspecies are more site faithful while birds of the *islandica* subspecies are more explorative [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED]

Our third objective is to investigate if some personalities are more likely to adapt to different migratory routines than others. When combining the personality scores obtained in captive experiments, with the subsequent migratory routines expressed after imprinting and obtained from the PTTs mounted on the knots of the *canutus* subspecies, we will be able to say if some personalities are more prone to change their routines than others.

The **achievability** of this project is believed to be high. The [REDACTED] group is very experienced in developing behavioural experiments and tagging methods for knots and the unique shorebird facilities at NIOZ provide the possibility to keep high numbers of knots in captivity for an extensive period. Meanwhile our lab provides us with the opportunity to mimic Wadden Sea conditions including a tidal sea water filled basin with sandy islands including natural temperature and photoperiod and is therefore the perfect arena to do behavioural experiments on knots in a field-based setting. From earlier experience we know that even Knots held in captivity for almost 20 years mix again with free living flocks after their release.

### 3.3 Belang

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

#### Maatschappelijk belang

With the increasing threat of anthropogenic disturbances and climate change at the wintering- and breeding grounds of the knots we believe that it is very important to study the learning of the migratory routines and to investigate how flexible (young-) individuals are in adjusting their annual routines to their rapidly changing habitat.

#### **Wetenschappelijk belang**

The scientific purpose of this project is that we aim to support the recent upswing of scientists who claim that there is more to inheritance than genes and DNA alone. Like Laland and coworkers (2015) phrased it: "To make progress, scientists must specify phenomena that require explanation, identify causes and decide on what methods, data and analyses are explanatorily sufficient. In doing so, they may inadvertently create a 'conceptual framework' a way of thinking for their field, with associated assumptions, concepts, rules and practice, that allows them to get on with their work". At this point in time in the field of developmental ecology it seems time to expand the classic genetic framework to allow a much bigger evolutionary role for developmental processes.

On top of that it is expected that the application of the 2 gram tags that are described in this project will be used extensively in future studies on red knots and other small birds. The experience gained here will prove very useful for application of the tags in future experiments in our own group and beyond. With the development of smaller tracking devices tracking studies in small animals, including birds, becomes more and more popular. However, most studies still use tracking to map intrinsic animal movement. Projects like the one we are describing here, in which animals are first manipulated and the resulting tracks are analyzed, are relatively rare.

---

### **3.4 Onderzoeksstrategie**

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

---

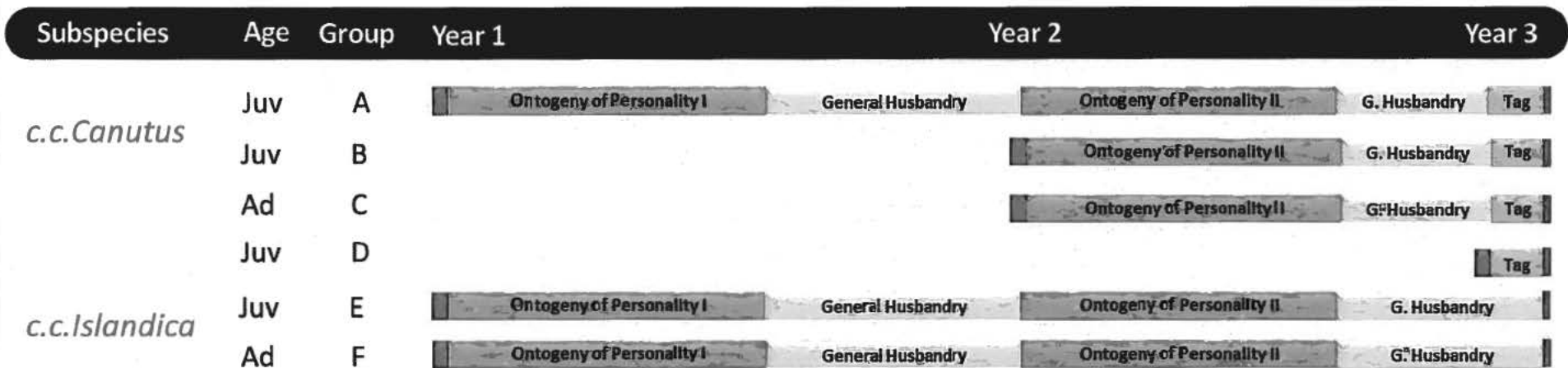


Figure 2. Graphical representation of the research strategy of the project. The separate lines represent different experimental groups of knots divided over two subspecies; *c.c. Canutus* (pink) and *c.c. Islandica* (blue). The birds belonging to group A, B, D and E will be caught as juveniles while group C and F will be caught as adults. The blue boxes "Ontogeny of Personality I & II" represent the experimental periods that the specific group is assigned too (see 3.4.2 and Appendix 1). The white boxes "General Husbandry" mark captive periods without experimental manipulations. The slim red boxes represent capture and release episodes respectively. Only the birds of the subspecies *Canutus* will be released with tags.

Like explained earlier our focus is on two subspecies of the red knot that co-occur in the Wadden Sea during northward and southward migration but that have different global distributions. In order to answer to our first research objective, on the ontogeny of migratory routines, we will perform a temporal displacement experiment with four groups of *c.c. Canutus* knots (group A t/m D). To investigate if experience in early life shapes individual migratory routines, we will intercept two groups of juvenile *canutus* birds at two occasions on their southward migration one year apart. Subsequently we will keep them captive in our shorebird facility for respectively one or two years. During this captive period these birds will be kept in mixed flocks with birds of the *islandica* subspecies (group E & F) in outside aviaries under local ambient light and temperature.

By preventing *canutus* juveniles to migrate to their natural wintering site but instead forcing them to experience environmental conditions, which birds of the *islandica* subspecies naturally experience, we hope to find out how this will affect their migratory routines after release. If we are right to assume that experience during their first southward migration shapes migratory routines we expect that these *canutus* juveniles who experience *islandica* wintering conditions will show deviated patterns after release. By keeping one group captive for one year and another for two years we will be able to pinpoint at what time during the first two years of development the shaping of these routines takes place. We are aware of the fact that the captivity of the animals rather than their geographic allocation may affect their subsequent migration patterns therefore we also intend to keep and tag a group of adult *canutus* knots (group C) for one year at our facilities. Because we assume that the migratory routines of these animals are fixed by earlier, free-living experiences, and that they will not alter their subspecies specific migratory routines. Therefore we will be able to tear apart a 'captivity-effect' from an 'ontogenetic-effect' when comparing the migratory patterns of adult and juvenile groups after release (group A&B with group C).

To control for the possibility that the actual mounting of the tags changes migratory patterns we are planning to catch and tag a group of fresh juvenile birds (group D) in Gdansk bay. If this control group D shows unexpected migratory behaviours that deviate from the flyway known to be used by this subspecies we may conclude that possible deviations from this flyway observed in the test groups (A and B), may not be an effect of special imprinting on a different wintering ground but an art-effect of their treatment involved in catching or because of carrying the transmitter. By means of this control group D we will be able to tear apart an "imprinting effect" versus a "transmitter-effect".

To study the ontogeny of personality the knots will engage in repeated behavioral experiments under different dietary regimes and conforming energy expenditure and digestive organ size changes over the course of two years. We will focus on repeatability of exploration behaviour of knots on different diets between experienced (adult) and inexperienced (juvenile) birds within each subspecies to investigate if exploration behaviour is equally consistent in adult and juvenile birds. A high level of consistency in exploration behaviour is related to fixed personalities, while inconsistent scores of exploration behaviour indicate that personality is still taking shape. In order to look at the within individual shaping of personality we will study the within individual development of consistency in exploration behaviour by means of repeated personality tests over the course of two years.

We do realize that the experience gained in captivity in our experiment is not the same as free developing individual would have gained. We do know from earlier studies on personalities in adult knots that individuals show consistent behaviour which we also expect to find this in the adult groups (C & F). However, if the other groups (A, B, D, and E), caught as juveniles and maturing in captivity, will also reach consistent individual difference despite the absence of experience in a natural habitat remains to be seen. In comparison with the group of adult red knots it will either way provide us with very interesting insights on the development of personalities, because a remaining consistent difference in exploration behaviour over the two year period between birds caught as adults and birds caught as juveniles will tell us that indeed experience gained in the wild is needed to shape a birds personality. Whereas if birds caught as juveniles don't show consistent behaviour during the exploration tests in the first year, but do so in the second year, age seems to be more important to shape personality than natural experience gained while free ranging in the wild.

Objective three on the relation between personality and migratory routines does not comprehend additional manipulations but is the direct result of the combination of objective one and two. Because we will release our *canutus* birds with high quality solar PTTs we will be able to follow them for several subsequent migrations. This will enable us to relate personalities obtained from the lab to migratory routines. Since we curtailed the experience of the knots of the *canutus* subspecies (group A-D) to the Wadden Sea wintering area while they were supposed to fly to Western Africa these knots may either decide to stay in the Wadden Sea (learned wintering area) and wait until the summer to migrate north to breed, or fly to West Africa (possibly genetically inherent wintering area) to spent their subsequent winter in 'the appropriate' hemisphere. Our expectations are that birds that show very explorative behaviour in the lab are in general more explorative and will consequently show more explorative migratory pathways and local movement on both wintering and breeding areas. It is also possible that the tendency to adjust to novel migratory routines, which we impose on the temporary imprinted *canutus* juveniles, differs between different personalities.

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

#### Catching

All birds are caught from the wild by means of the least invasive catching method available for the catching locations concerned, this means catching by using walk-in traps in Gdansk bay in Poland where tide is absent and mist netting on high-tide roosts in the Wadden Sea. Subsequently birds are processed according to standard procedures including structural size measurements, withdrawing a small blood sample for sexing, and the application of rings.

#### Acclimatization period & General Husbandry

After arrival in our experimental shorebird facility birds are randomly assigned to 8 separate but similar outdoor aviaries. During the first few weeks after arrival, i.e. acclimatization period (Fig. 2), we expect most health problems to occur, if they occur at all. Consequently it is during this period that extra close attention is paid to the wellbeing of the birds and their capacity to adjust to the captive situation.

#### Ontogeny of personality

##### 1. Diet manipulation

To study the effect of different diets and associated gizzard size on exploration behaviour the birds undergo four so called 'diet manipulation' treatments during which the birds are fed ad libitum on either high quality soft [REDACTED] pellets, for which knots maintain a small gizzard, or low quality hard shelled food (defrosted mud snails, hydrobia), for which knots need a big muscular gizzard to digest. In order to study the within individual repeatability of gizzard size adjustment to diets of different qualities both diets are offered twice to each bird. When birds are adjusted to the new food source (approximately within one week) their gizzards size is measured by means of ultrasonography before the start of the behavioural tests.

##### 2. Behavioural assay: personality test

This experiment concerns simple repeating, but non-invasive measures of individual searching behaviour in a novel environment in a series of repeated diet switches and with resulting differences in gizzard size.

#### Migratory movement after temporal displacement

Eventually three juvenile groups and one adult group of the *canutus* subspecies (A, B, C & D) will be equipped with state of the art PTTs to follow the migratory routines of the experimental birds after imprinting on the *islandica* wintering grounds for zero, one or two years. For the actual tagging state of the art tags will be used. The tags will most likely be 2 gram solar powered PTTs manufactured by [REDACTED] that will be mounted by means of a full body harness to enable data gathering during multiple migratory seasons.

---

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.

After capture all birds enter the so called acclimatization period during which they are allowed approximately 2 months to get adjusted to our general captive conditions. During this period all birds feed ad libitum on high quality staple food [REDACTED] and their general wellbeing is intensively monitored.

After this acclimatization period the diet manipulation period starts preceding the personality tests. Only birds that are in good condition in terms of a stable body weight, properly preened plumage, good capability to fly and no obvious injuries enter the diet manipulation.

The personality tests will be arranged as such that every bird will be tested four times according to a randomly assigned schedule covering a period of at most 6 months, and that this routine will be repeated in two subsequent years. Only birds in good health participate during the personality tests, their condition will be checked before the start of all of the four tests, and before the start of the second year of testing.

In order to relate the personalities obtained from the lab to preferred migratory routines, and on top of that investigate how different personalities may vary in the tendency to adjust to novel migratory routines, the migratory movements of the knots of the *canutus* subspecies after released will be tracked.

During mounting of the transmitter special attention will be paid to the condition of their flight feathers of the birds. Birds that are not deemed fit enough to carry a transmitter will be released without or kept until their condition improves.

Since our experimental shorebird facility is located at a central location in the wintering area of the *islandica* subspecies we do not manipulate the natural migratory pattern of the *islandica* knots (group E-F) besides the fact that we refrain the adults from migrating to the breeding grounds in year two. Skipping of one breeding season is believed to be quite common in knots when individuals are in poor condition or if the conditions met during migration are very bad. Consequently we do not expect their subsequent migrations to be affected by their time in captivity and they will be returned to the wild with color rings for potential individual identification in later years.

All birds will be subjected to all predetermined tests independent of the preceding test outcomes. I.e. no intermediate decisions on testing have to be made based on test results alone.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Bird capture & Personality test
2	
3	
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.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	80200	
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee.	
1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
	1	Bird Capture & Personality test

*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.

Within this project we will focus on the ontogeny of Migratory routines (path and timing) and the ontogeny of Personalities. On top of that we will connect insights gathered on personalities in the lab with free-ranging movement after release with a transmitter. We will go about this by means of five different types of animal procedures; (1) Catching, (2) Acclimatization period & (3) General Husbandry, (4) Ontogeny of Personality and (5) Migratory movement after temporal displacement.

The first objective of this project regards the ontogeny of migratory routines in red knots. This experiment involves the tracking in knots of the *canutus* subspecies that will be imprinted on the 'wrong' wintering habitat by keeping them captive in mixed flocks with *islandica* knots at our shorebird facility in the



Dutch Wadden Sea. Our reasons to study the ontogeny of migratory routines in birds of the *canutus* subspecies (rather than *islandica*) is that our experimental shorebird facility is located in the Dutch Wadden Sea, the natural wintering area of the *islandica* subspecies. Consequently, by keeping *canutus* knots captive here we impose a wintering shift from Western Africa to the Wadden Sea. While this replacement would not hold true for *islandica*, that despite being held captive, would still be at their geographically natural wintering site.

Because the two subspecies species are morphologically and genetically indistinguishable we are only able to distinguish them based on their timing of migration in combining phenological characteristics.

During southward migration *canutus* knots only occur in the Dutch Wadden Sea between the end of July and early September, all knots observed before or after that are known to belong to the *islandica* subspecies. Catching both adult and juvenile knots that certainly belong to the *islandica* subspecies is therefore possible outside this period.

Catching *canutus* adults is feasible during southward migration based on high body weight and the absence of wing molt (birds are prepared to continue migration). Since juvenile birds don't molt their primary wing feathers until after their first southward migration it will not be possible to distinguish *canutus* and *islandica* juveniles in the Wadden Sea. Then the only possibility to distinguish juveniles of the two subspecies is to catch them at locations where only one of the two subspecies is known to occur. One of the best studied stopover places that is only used by *canutus* juveniles is located along the Baltic coast in Gdansk Bay in Poland. Since our group had a very long history of joint research with a group operating there [REDACTED] catching juvenile *canutus* knots is within reach.

This experiment involves the comparison of migratory routines of juvenile *canutus* that will be temporally displaced by being held captive for one or two years respectively (fig.2 original project proposal, group A & B) and a control group of juvenile *canutus* that will not be manipulated (fig 2, group D). Their subsequent migratory pattern obtained from PTTs will tell us if experience gained during migration and wintering shapes individual migratory routines, and if this 'shaping' happens in the first or second winter. Although conditions in our facility resemble Wadden Sea conditions in terms of temperature, photoperiod and geographic location it is very different from wintering freely in the Wadden Sea in many other aspects (like foraging conditions and predation pressure). In order to tear apart the ontogenetic effect we are interested in, from a potential captivity effect we also aim to catch and keep a group of adult *canutus* knots that will be released with transmitters after one year of captivity (fig. 2, Group C). Because we expect that the migratory routines in these birds are already completely fixed by earlier experience their subsequent migratory routines shouldn't be effected by our manipulation.

The second objective in this proposal aims at elucidating the ontogeny of personality in Red Knots. By means of comparisons of exploration behaviour between adult and juvenile birds we will be able to tell how consistency in behaviour (i.e. personality) differs between birds of different ages (experience). Besides this comparison between birds of different age classes (and inevitable difference experience) we will study the within individual development of personalities by means of repeated tests over the course of two years. On top of that we will look at the effect of experience on personalities by means of a comparison between the personalities of the two different subspecies that differ in global distribution and consequently prevail for the accumulation of very different life experiences before capture.

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.

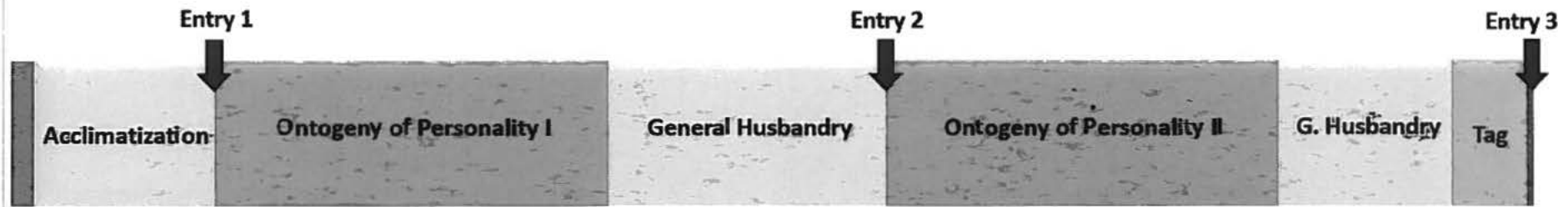


Figure A1: Timeline representing the order of all types of animal procedures included in this project. The displayed timeline above represents the maximum number of animal procedures. In practice this will only be inflicted one out of six groups of the experimental birds (fig 2, group A). All other groups are exposed to only parts of these animal procedures. The three entry moments in time (before the start of the diet manipulation periods (entry 1 & 2) and after the mounting of the PTTs) represent the moments at which the physical state of the experimental birds is examined and decided if the bird is deemed fit to continue to the next step. See section 1 for the definition of these entry criteria.

#### Catching

The knots of the *canutus* subspecies will be caught by means of walk-in traps on the shores of the Vistula mouth in Gdansk, Poland. These traps are especially designed to catch small waders by means of a non-invasive method. These small traps (approximately 1m x 2m x 0.3m) are made of fine maze and consist of a series of joint compartments connected by means of funnel shaped passages. These cages are positioned along the water line and birds that follow this same line while foraging accidentally walk in and won't be able to return through the funnel shaped entrances. A big advantage of these traps is that birds get caught in small flocks and can continue foraging in the trap, hence diminishing the amount of stress and food missing out on.

Every two hours these traps are emptied and structural size of the birds is measured, rings are applied for individual identification and a small blood sample is taken for molecular sexing. The birds participating in the subsequent experiments are then moved to a bigger aviary containing fresh water and ad libitum staple food (██████████; ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████ ██████████; composition: crude protein 45%, carbohydrate 21%, crude fat 16%, crude ash 9%, lysin 3%, indigestible fibres 2%, phosphorus 1%), in preparation for their transport to the Netherlands. The transport to the Netherlands happens in one continuous drive.

The birds of the *islandica* subspecies will be caught in the Dutch Wadden Sea on several high tide roosts at night by means of mist nets. This method is based on the nocturnal tidal movements of knots on the Mudflats. Depending on the weather conditions and the numbers of birds observed during the day between 100-200 m standing net is placed on a high tide roost. At night, when the birds cannot see the nets, the nets are opened around high tide for the knots to fly in during their movements to and from the high tide roosts. Experienced people will then take the birds out of the nets and take them to a temporary field lab to be processed. A blood sample will be taken for molecular sexing, structural size and weight will be measured and birds will be ringed for individual identification. Within a few hours after capture the birds will be moved into the cages at our shorebird facility.

#### Acclimatisation period

After capture birds will be assigned randomly to eight separate but similar outdoor aviaries in mixed flocks by age and subspecies. This means that at all times every cage contains a flock of birds of equal numbers of both subspecies and all age categories. By means of the mixing of all birds we assure that their captive experience is exactly similar and can therefore never be the reason to find different experimental outcomes between age classes and subspecies. The acclimatisation period is used to have birds acclimatized to our general husbandry procedures so all procedures are equal during the General Husbandry

period(s), however extra attention will be paid to the wellbeing of the animals. Because it is during this period that we expect stress related or latent health issues, that cannot be prevented in recently caught birds, to appear.

### General Husbandry

During the acclimatization period and periods in between experimental procedures birds are fed ad libitum on staple food (██████). The holding aviaries are open and birds experience ambient daylight, temperature and photoperiod. During the entire captive period, during the acclimatization- and experimental period but also during intermediate moments all birds are caught once a week for a general health check while the cages are cleaned and food and water trays are cleaned with fresh water, soap and bleach. Their weight, moult (plumage and wing), potential injuries and general wellbeing is scored to facilitate early intervention when needed.

### Ontogeny of Personality

#### 1. Diet manipulation

During the experimental period birds are fed ad libitum on either high quality soft food (██████) for which we know that knots maintain small gizzards, in half of the cages and low quality hard shelled food (defrosted mud snails, *Hydrobia ulva*) for which we know knots maintain relatively big gizzards, in the other half (██████). These so called blocks of "Diet manipulation" take approximately 5 weeks, in the next block the previously assigned (██████) cages become *Hydrobia* cages and the other way around (Figure A1). Earlier work on gizzard size reversibility (Dekinga et al. 2001) revealed that the capacity to adjust gizzard size to different types of diet is extremely high and flexible in knots. Therefore we don't expect that the order in which we present the diets matters to the actual gizzard size. In other words, after approximately 3 weeks of adjustment to the new food the physiology of the knot is believed to be unrelated to the food source before that. Similarly, after adjustment the average body mass of the birds on *hydrobia* and the birds on (██████) will be equal.

However, we work with migratory animals that show strong seasonally changing circannual rhythms in physiology related to migration (moult, storing fat reserves and changing digestive systems etc.). Because this project covers approximately two years during which different seasons present themselves we want to control for the inevitable changes in seasonality and related physiological changes in our experimental birds. Therefore we decided to split the total flock of birds and offer both types of diets simultaneously. Consequently we will be able to address changes in gizzard size to differences in diet, rather than to seasonal changes that are often dominantly present in migratory animals.

After approximately 3 weeks when the birds are adjusted to the new food source the gizzard size and pectoral muscle of all birds are measured by means of a non-invasive method based on ultrasonography. To standardize the measurements birds are deprived from food for at least two hours to ensure an empty gizzard. Subsequently birds from both diet treatments are selected at random with the observer being unaware of the identity, and treatment of the birds. Following Dekinga et al. 2001 measurements will be taken using a (██████) ultrasound apparatus with 7.5 MHz linear probe dredged in ultrasonic gel (██████). The width and height of the gizzard, visualized on a Mitsubishi video copy processor, are measured by placing the probe in an angle of 45 just below the rib case of the birds. Two measurements will be made per bird and the average width and height will be used to calculate the actual gizzard mass by means of a previously obtained calibration curve (Dietz et al., 1999a).

#### 2. Behavioural assay: personality test

In the next days (approximately eight birds per day) the exploration behaviour of individual birds is tested in a novel experimental arena (Fig. A1). Following earlier work on the personality in red knot our exploration arena measures 7 x 7 m and is filled with a layer of 30 cm seawater and five 1m x 1m artificial islands

filled with wet sand. In this experiment birds are caught from their holding aviaries 2 hours before the actual test starts and held in separate boxes deprived from food in a semi-dark and quiet room to make sure that birds have similar experiences and hunger levels before the start of the test. Every trial lasts 30 minutes during which the behaviour of the bird is recorded through one way glass and when the trial ends the bird is weighted and moved back to its holding cage. After completing one round of personality tests the birds are assigned their new diet and a new round of adjustment to this diet and subsequent tests starts. This process will be repeated three times (Fig. A2).

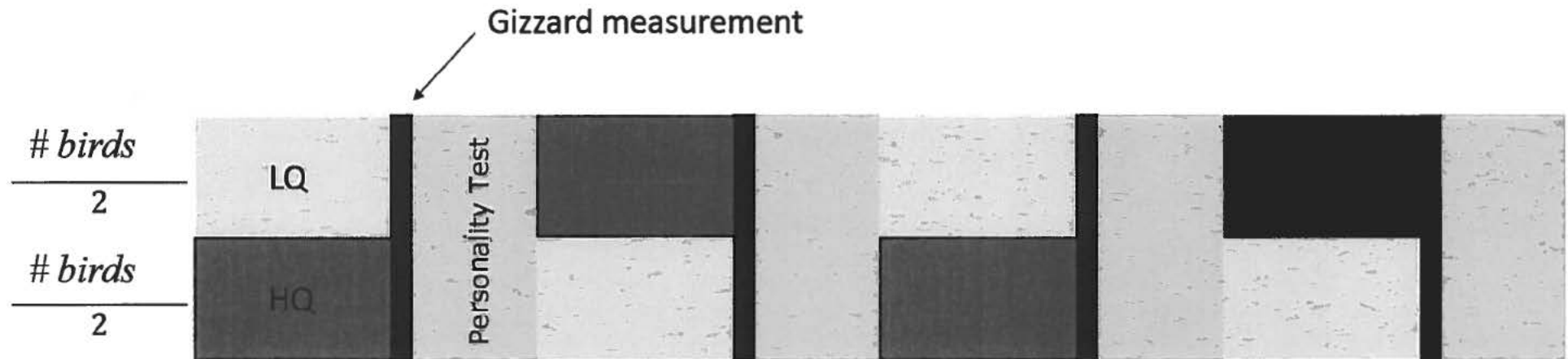


Figure A2 Graphical visualization of experimental design. This figure shows the outline of the experimental procedures involved in the experiment on the ontogeny of personality. The complete group of birds will be subjected to a sequence of four diet manipulations (blue bars), subsequent gizzard measurements (black bar) and personality test (red bar). To control for any unavoidable seasonal influences half of the birds start with a Low Quality diet consistent of *Hydrobia ulva* (LQ; light blue) while the other half starts on a High Quality [redacted] (HQ; dark blue). Birds are randomly assigned to both treatment groups. This entire procedure will be repeated in the second year.

#### Migratory movement after temporal displacement

The development of even better, smaller and lighter tracking devices is eminent. For the final release of all the knots of the *canutus* subspecies we are planning to mount state of the art tags. At this moment in time that is the 2 gr solar PTTs (Platform Terminal Transmitter) with integrated harness made by [redacted]. These solar PTTs are programmed such that they transmit whenever they have enough charge. With sufficient light this means that they will run continuously. Adult and immature (2 cy) knots have the same average lean (non-migration) and fat (migration) weight of approximately 120 and 200 grams respectively. This means that the addition in weight ranges between 1-1.7%.

Since we are interested in consistent individual differences in behaviour that might be expressed during migration, we aim to gather multiple subsequent migratory tracks per individual. On top of that, subsequent migratory tracks of birds on their first full migration will tell us if knots adjust their migratory routines with experience like we expect. Consequently our tracking dataset becomes more valuable with every additional year of data.

In similar studies it is common to implement a weak link in the attachment material of the tag that enables the animal to shed the tag when the experiment is over. Since the 2 gr solar PTTs that we are planning to use contain an integrated harness consisting of conductive metal coated in plastic that functions as a base for the transmission of the signal we are unable to proactively install a weak-link. But, although the exact durability of this material remains to be seen we expect that corrosion of the metal will result in shedding of the harness and tag in the foreseeable future (i.e. after 1-5 years).

However, our hope is that the harness will NOT break! In the first place because the [REDACTED] solar satellite transmitters prove to operate successfully for many years. The current record is 8 years on an American long-billed curlew ([REDACTED] [REDACTED]). From experience we learned that we lose 'transmitters' mainly because the harness breaks (see above) or because the bird dies. We are not aware of any situation in which the bird and the attachment method function properly but that the transmitter fails. This is truly remarkable considering the fact that the majority of our population of birds mounted with transmitters are resighted on a near yearly basis by means of their unique coloring combinations. Indicating that we would be able to discover non-functioning transmitters. In our work on the Godwits (at [REDACTED]) we are tracing two particular birds Amalia and Badajoz that are currently on their 5<sup>th</sup> northward migration carrying a transmitter.

In terms of the research scope of the institute, where we focus on long term research projects, we secretly hope that we will be able to follow these knots not for 2 but for 5-10 years, overshooting the duration of this PhD project.

We are confident that this transmitter and attachment method works, since in April 2016 we first released one knot carrying a prototype of this specific transmitter. This knot finished a very high quality complete north and southward migration. However, since we are among the first to use this transmitter on high numbers of birds it remains to be seen for how long this technique stays operative. When a transmitter disappears from the network we will not know if this is the result of a technical failure or if the bird died, therefore we aim to follow our equipped knots at their stop over and wintering locations to observe them using the 'traditional' method based on unique color ring combinations.

---

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

Because we work with wild animals, partly of unknown age, that may carry diseases contracted earlier an initial loss of experimental animals is to be expected. Long-term experience with knots in captivity indicates that most health problems occur during the first few weeks after capture, it is during this period that we expect a higher loss off birds. On the contrary, the estimated long term loss of birds after habituation to the conditions in captivity, has always been very low (approx. 1 %). Over all the total loss of birds to disease and old age in captivity is estimated at 7-10%.

Because the captive period of all birds will be quite long (max. 2 years) we anticipate that some birds (approx. 5%) will not be deemed fit enough to participate at certain times in the personality tests or gizzard measurement which may result in missing data for this specific individual and a consequent drop out of the experiment.

From earlier experience we know that a small number of birds (< 1 %) will not 'play along' with the intended diet switches between low and high quality food. In this case we will have to exclude them from the experiment. We anticipate that a small number of birds (< 5%) will not cope with the mounting of the transmitter and it will be better to release them without, consequently reducing our sample size.

Besides the aforementioned issues another small number of birds (<10 %) may have minor health issues that do not affect their quality of life but make them less suitable to be mounted with a tag. Issues one could think about, are temporarily withhold in (wing-) moult or extreme stress related responses. Based on earlier experience in transporting knots we do not expect to lose birds due to factors related to the transport from Poland to the Netherlands. Because research at our institute usually focussed on work with adult knots, juveniles were only kept occasionally. Consequently we have less experience in keeping high numbers of juvenile birds but we have no reason to assume that these probabilities differ between birds of different age categories.

In this project we are interested in mean differences in personality, physiology and migration routines in birds of two subspecies and three age classes (juvenile, second calendar year birds & adults). On top of that we are interested in among-individual differences in behaviour (personalities), and in the within-individual consistency in behaviour (repeatability) of the same birds.

Earlier work on personality research shows that a sample size of 23 is enough to draw meaningful statistical inferences about consistent individual differences (personalities) in adult knots of the *islandica* subspecies (Bijleveld et al. 2014). We are the first to compare the difference in exploration behaviour between adults and juveniles, and on the development of exploration in juveniles over two years. And because one of our hypothesis predicts that juveniles are still in the process of shaping their personality we expect more variation in exploration behaviour in juveniles. More variation implies a bigger samples size to make meaningful statistical inference about among individual differences.

Earlier work on exploration behaviour in knots focused on the *islandica* subspecies (Bijleveld et al. 2014). We have no evidence that birds of the *canutus* subspecies show differences in exploration behaviour when compared to *islandica* knots, but this comparison is one of the outcome parameters in this project. When comparing two treatments groups (birds belonging to different subspecies) it is statistically common practice to use equal sample sizes.

For the birds that participate in the experiments on the ontogeny of personality (figure 2 group A-C and E-F) we aim for an effective sample size of 35. To get to this number target sample size of 35 birds we aim to catch initially 42 individuals. Since  $35 \text{ (target sample size)} * 100/90 \text{ (10\% total loss to disease)} * 100/95 \text{ (5\% missing data)} * 100/99 \text{ (1\% no diet switch)} = 41.39 \text{ (42 individuals)}$ . Since most of the loss is expected in the early stages after capture we don't expect to find a significant difference in loss between birds being kept for one or two years respectively.

Out of this subset of birds only the birds belonging to the *canutus* subspecies will be released mounted with transmitters (figure 2 group A-C) to study the migratory movement after temporal displacement.

For this group of bird we expect that an additional loss in sample size of 5% (will not cope with the mounting of the transmitter)\*10 % (not fit to be mounted with a tag) resulting in an effective sample size of 30 ( $30 * (100/90) * (100/95) = 35$ ). An effective sample size of 30 individuals per category for a long term tracking study like we present here is still by far among the once presenting the highest numbers cited in literature.

Since the juvenile *canutus* control group (D) will be mounted with a tag but won't be held captive for extensive period of time, nor enroll in the behaviour experiments, only a maximum loss of 5% (will not cope with the mounting of the transmitter)\*10 % (not fit to be mounted with a tag) is expected due to the fact

that some birds are not considered to be fit enough to be mounted with the tag. Consequently an initial sample size of 25 will enable an effective sample size of > 20. The targeted amount of birds will most likely be met since we can increase the catching effort by means of increasing the length of the catching period or catching at multiple locations when catching results are disappointing. If in one year the preferred sample size of one or more experimental groups cannot be met we might choose to catch these birds in the year after and control for a possible year effect during the data analyses.

If, for some unexpected reason, the numbers indicated above cannot be met, careful considerations will be made in order to establish if continuation of the project is preferred. Especially during later stages of the project continuation with lower sample sizes in some groups may be preferred, consequently excluding certain groups. The same applies for groups of the two subspecies, if it turns out to be more difficult to maintain high numbers of one subspecies or age category, the research on the other may still continue. If the situations occurs the ivd will be consulted for advice.

#### B. De dieren

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

Two groups of 42 juvenile *c.c. Canutus knots* (group A & B) will be intercepted on their first southward migration in Vistula Mouth (Poland) on two occasions one year apart to create a gradient in imprinting duration. A group of 42 Adult *canutus knots* (group C) will be used to tear apart a 'captive-effect' from an 'ontogenetic-effect' when comparing the migratory patterns of adult and juvenile groups after release (group A&B with group C). Meanwhile group C is a reference group in the experiment on the ontogeny of personality in a comparison with juvenile birds of the *canutus* subspecies and with adults of the *islandica* subspecies. To control for the possibility that the actual mounting of the tags changes migratory patterns we are planning to catch and tag a group of 25 juvenile *canutus* birds that will not be held captive but released with a transmitter simultaneously (group D). By means of this control group D we will be able to tear apart an "imprinting effect" versus a "transmitter-effect".

One group of 42 adult *islandica knots* will be caught at their natural wintering site in the Dutch Wadden Sea to study the differences in personality between the two subspecies. A group of 42 juvenile *islandica knots* will be caught in the Wadden Sea (also their natural wintering area) to study the ontogeny of personality in the *islandica* subspecies, and to compare this with the development of personalities in the *canutus* subspecies (of which the juveniles are intercepted half-way, and never completed their first southward migration).

During assignment of the experimental groups the sex of the experimental animals are not taken into account and birds are assigned at random to a group. The reasons for this is twofold: First, male and female knots are very similar in appearance, behaviour and migratory habits. Consequently we do not expect to find differences in the development of personalities or migratory strategy based on sex. Second, assuming that we catch a random set of birds, which we assign at random to the experimental groups and approximately even distribution of males and females within groups are expected. Hence, any effect found between groups cannot be based on sex alone.

#### 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:

In most projects involving experimental animals, the animals function as a model to study (human-) processes. In those situations it might be possible to work with replacements. However, this is a study on the ecology of the experimental animals (red knots) themselves, consequently it is non-desirable in this project to have the experimental animals replaced. Observers participating in the live observations during the personality tests are trained by using video recordings of previous experiments. Consequently our observers are very well trained to do observations while no discomfort is released upon our experimental animals.

##### Refinement:

The holding aviaries are enriched with an artificial mudflat and running seawater that is transported directly from the Wadden Sea. Hence these social animals are housed in flocks and can express natural behaviour like probing in the mud.

In our research group we have a history of using innovative tagging techniques over the past few years (for TDOA see MacCurdy et al. 2009, 2011; for Radio transmitters see van Gils et al. 2006). Since 2013 we developed a full body harness attachment method for tags on long-distant migratory birds like Red Knots that deal with extreme variation in fat stores over the annual cycle (Chan et al. 2015

For the actual tagging state of the art tags will be used, most likely 2 gram solar powered PTTs (Platform Terminal Transmitter) made by [REDACTED] [REDACTED]. With a body mass ranging from 110-200 g, this comes at a < 2% of the total body mass of the knots, a percentage that is considered to be much below the frequently used 5 % rule (Chan et al. 2015). In spring 2016 we first released one knot carrying this PTT and attachment method and this bird successfully completed a full migratory circuit indicating that our approach is technically sound. For the planned release we intend to use 2.5 g solar PTTs

##### Reduction:

A big advantage of the full body harness over gluing is that it will provided us with multiple years of data since the transmitter is not shed when the birds moult. This does not only mean that we can follow (young) individuals for multiple years and study the development of their routines (the focus of this project) but also that we can obtain multiple tracks which requires less individuals. Consequently we were able to reducing the numbers of birds used.

For objective two and three, the ontogeny of migratory routines and the relation between personality and migratory routines we decided only to mount the birds of the *canutus* subspecies with transmitters. Because only tracking birds of the *canutus* subspecies will enable us to fulfill these objectives without tracking the *islandica* subspecies. Hence there is no point in making them go through the potential inconvenience of wearing the transmitters.

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.



During all times, except during the personality tests, birds are housed in flocks and will have ad libitum access to food and fresh- and salt water. During the experiments on the ontogeny of personality individual birds will be caught from their holding aviaries and tested within 3 hours, after which they are immediately returned to their original cages. This will happen only 4 times per bird per year. Needless to say birds will only be handled by well experienced and qualified people.

To reduce discomfort to the birds as much as possible the disturbance in their holding aviaries is limited to the weekly cleaning and health checks or when food needs to be replaced/added. At all other times the condition of the birds is checked without disturbance by means of observing them through one-way glass.

Gizzard measurements will exclusively be performed by qualified people by means of a well-developed and non-invasive ultrasound method for knots (article 9 official, Dekinga et al. 2011).

The considerable long term captive period enables extensive and thorough testing of the attachment methods and materials in the safe environment of the cages. Because we will keep our experimental birds in the safe environment of our cages for at least a week to adjust to the transmitter we reduce predation and starvation risk that may occur when birds are immediately released while still getting accustomed to wearing the tag. Only birds that show no signs of distress after this week of habituation to the transmitter will be returned to the field mounted with transmitter

#### 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.

Research is not performed due to legal requirements

#### 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.

At our institute we have a longtime history of succesfully keeping shorebirds in our specifically designed shorebird facility. Our general holding aviaries measure 4 x 2 x 2.5 m and are lined with white trespas. The floors are covered with constantly running seawater and every aviary contains a small mudflat covered with running sea water. Outside experiments birds have ad libitum access to staple food (■■■■ food pellets) and fresh water and undergo weakly health check while their cages are cleaned.

##### 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.

Catching and housing in Poland is covered by Polish legislation.

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.

It is possible that a bird injures itself during catching, in these situations we will consult the vet to seek advice to reduce discomfort to the bird.

#### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

#### Catching

Initial catching of the experimental birds is believed to impose mild discomfort when birds are caught in Gdansk Bay (walk-in traps), and moderate discomfort when caught in the tidal areas of the Wadden Sea (mist netting) due to stress resulting from the type of animal procedure.

#### Acclimatization period & General Husbandry

Working with animals implies that disease may present oneself. Because these birds are caught from the wild it is possible that they already carry something when brought into our facilities. That is why we implemented an acclimatization period prior to the start of the experiments. During this period extra veterinarian control will be implemented.

#### Ontogeny of personality

Before the start of the animal procedures related to the ontogeny of personality the general health of all the birds is assessed and only birds that are deemed fit continue in the procedure of diet manipulation (Fig A1; Entry 1 & Entry 2). The birds that continue must show a stable and healthy weight indicating that they are accustomed to the conditions of the General Husbandry. On top of that they should have no obvious signs of injury or show divergent behaviour such as roosting isolated from the group or standing alone with puffed up feathers.

#### 1. Diet manipulation

In general the diet manipulations are not believed to impose additional harm to the birds since knots naturally also face extreme changes in diet composition during an annual cycle. That having said we know from earlier experience that some individuals (< 1%) have trouble adjusting timely to the new food source offered. For this small group of birds we believe that the temporarily discomfort brought upon them is moderate.

#### 2. Behavioural assay: personality test

Since the personality tests are short and happen occasionally and consist of distant observation of natural behaviour in a novel arena the discomfort of these tests are believed to be mild.

#### Migratory movement after temporal displacement

The birds of the *canutus* species that will be mounted with transmitters may show aberrant behaviour and are believed to be of moderate discomfort, after that the bird will get used to wearing the transmitter and hardly notice the difference. The discomfort will reduce to being mild.

Under the assumption that the manipulation of the *canutus* birds is successful, they will migrate to the breeding grounds of the *islandica* subspecies. One could speak about discomfort imposed on these birds since they subsequently will have to 'inhabit' the wrong flyway population, with all its consequences. On top of that the subspecies might interbreed, leading to hybridization between the subspecies. We believe that the discomfort put on these individual birds is none existent. On the (sub-) species level the degradation of the ethical integrity of both subspecies is also not considered problematic.

---

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

#### Catching

In general this catching & processing method is believed to be mild disturbance to the birds, this believe is confirmed by our observation that (other) shorebirds, including knots, caught during the same period as our experimental birds often get caught in walk-in traps multiple times during the season, sometimes even multiple times in one day. On several occasions birds were released a few kilometres from their catching side and even then they returned to the same walk-in trap! To us this is a very strong indication that birds do not get too distressed by the catching procedure.

During catching with walk in traps the birds probably only experience discomfort when they are extracted from the traps. Until that moment they can continue foraging within the trap. Catching with mist nets is bit more invasive since birds fly in the net and potentially hang there for a bit before they are taken out.

#### Acclimatization period & general husbandry

The causes of possible pathogens that the birds already carry when they arrive at our facility are very hard to trace. In the first days after capture stress may cause the birds to develop cramp in their legs or wings. On top of that the induced stress at capture may alter reduce their natural resistance against pathogens. From experience we know that a certain number of birds develop lesions on their toes and foot soles that can either be the result of avian pox (virus) or

bumblefoot (bacteria). Because knots are prey species to many natural enemies they don't show discomfort until their health conditions are really bad. Frequent checks of body mass, progress in moult and skin aberrations will aid in timely discovery of health problems.

### Ontogeny of personality

#### 1. Diet manipulation

The fact that some individuals do not rapidly adjust to new food resources came to us as a surprise and cannot be explained easily. Especially because this behaviour seems to be very maladaptive in a species that changes its diet multiple times per year.

#### 2. Behavioural assay: personality test

The transport of the birds between their holding cages and the experimental arena may be received as stressful. On top of that birds are isolated without food for two hours before the start of the experiment. Although free living knots also cannot feed during set times of the day when it is high tide we cannot exclude that this period is received as stressful.

### Migratory movement after temporal displacement

During the first few minutes after being mounted with the transmitter by means of a full body harness a bird may respond confused to the additional small weight on their back. This is visible in terms of the fact that birds may lean backward, or even walk backwards in order to 'shake' the transmitter off. Subsequently they may excessively preen the lines of the harness for a couple of days. The backwards movements after mounting the transmitter is probably the result of the addition of extra weight on the lower back. Since birds get adjusted to wearing the tags usually within a few minutes. And when they are used to the extra weight they rediscover their balance. The excessive preening is probably in the first place the result of the fact that birds are handled a lot during mounting of the tags and in the second place because they have to get comfortable with the addition of the wires around their wings. Consequently they may preen the wires of the transmitter until they are comfortable with where the lines run.

We do not believe that successful manipulations of the *canutus* birds on the *islandica* flyway causes discomfort to the individual birds, nor will it damage the ethical integrity of the subspecies.

One of our main reasons to assume this is that subspecies defined in Knots based on morphology are genetically extremely identical. More than any other known bird species [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED] To our best knowledge no records exist of hybrid offspring, neither did anyone successfully breed Knots in captivity, let alone Knots of different subspecies. However, because all the six Knot subspecies are almost identical we assume that manipulated *canutus* individuals on the *islandica* breeding grounds will be able to reproduce successfully. Hence we believe that the discomfort posed on the manipulated *canutus* individuals is negligible.

On top of that we do believe that no damage is done to the integrity of the subspecies by means of this experiment since we expect that especially inexperienced young *canutus* birds frequently accompany *islandica* knots due to natural situations when food is scarce or head wind prevails successful migration to West Africa. How often this happens is hard to say. In the project proposal section 3.1 several examples are highlighted in which individuals of one subspecies naturally appeared on the 'wrong' flyway.

---

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

### Catching

We will always choose the least invasive catching method available for the specific place and time of the year. That means that walk-in traps are preferred over catching with mist nets in areas where tides are negligible.

#### Acclimatization & General Husbandry

Especially in the first weeks after capture we check the birds frequently for abnormal behaviour through the one-way glass of the aviaries (to prevent disturbance). Since weight proved a good proxy for general health of the birds (90 gram is a crucial limit in both adults and juveniles, and a decrease potentially lethal) we closely monitor the individual changes in weights on a weekly basis, and more often when a bird shows a drop in weight. If a bird approaches the critical weight but does not show any signs of illness this bird is moved to a different flock because it might be losing weight because of its subordinate status in that particular flock. If its weight keeps dropping we provide the particular bird with some life food (mealworms) that proved in the past to stimulate foraging. As an ultimate resource, in cases when the bird really refuses to eat will start force feeding it until it starts to eat independently.

Because we expect most signs of stress and disease to prevail in the first few weeks after capture we will start the acclimatization period with a surplus of animals in order to allow for drop outs in the first few weeks. Before the start of the personality tests the ultimate group compositions are assigned and potential unhealthy birds are excluded from the experiments. At any stage during the captive period when birds show any sign of severe illness birds are taken from the experimental group and moved to a separate quarantine aviary where they receive treatment when deemed fit by our local vet (article 14). After recovery birds will be returned to the current animal procedure when feasible. Otherwise they will be returned to the field in small flocks during winter when naturally many knots assemble in the Dutch Wadden Sea.

#### Ontogeny of Personality

##### 1. Diet manipulation

In the very rare situations (<1%) that a bird refrains from switching from a [REDACTED] diet to a Hydrobia diet we will place them back in an aviary where birds feed on [REDACTED]. From earlier experience we know that birds will start eating [REDACTED] immediately and come back to a healthy body weight within 1-2 days.

Prior to gizzard measurements knots will be deprived from food for 2-6 hours to standardize gizzard content (empty). A six hour food deprivation is not detrimental in knots who depend on low tides to forage in the wild. After measurement the ultrasound gel is wiped of the belly of the bird.

##### 2. Behavioural assay: personality test

No long term/permanent problems are to be expected from stress related problems because the bird is only temporarily removed (3h) from its holding aviary.

#### Migratory movement after temporal displacement

With an average bodyweight of 120 grams in Knots the weight of the 2 gram PTTs comes at a < 2% of the total body mass of the knots, a percentage that is considered to be much below the frequently used 5 % rule (Chan et al. 2015). Since 2013 we developed a full body harness attachment method for tags on long-distant migratory birds like Red Knots that deal with extreme variation in fat stores over the annual cycle (Chan et al. 2015). From this experience we learned that individual problems with the tags or attachment method typically occur in the first few days after equipment. Therefore we want to use the month previous to release for equipping the tags and full body harness and adjusting the tags on an individual basis when problems occur. This means that also the control group will be transported to our facilities for a short habituation period (approximately a week).

Before the start of the animal procedures related to releasing the birds the general health of all the birds is assessed and only birds that are deemed fit are released (Fig A1; Entry 3). These birds must show a stable and healthy weight which proved to be a good indication of general wellbeing in the past. Birds are checked for obvious signs of injury or divergent behaviour such as roosting isolated from the group or standing alone with puffed up feathers. On top of that the condition of the plumage and flight feathers is checked with special attention to the primary wing feathers because their condition is essential in order to successfully complete migration.

Any bird that shows signs of injury or being disturbed by the transmitter (e.g. loss of > 10 grams of body weight, continued pecking at the transmitter, will have the transmitters removed. Birds will be checked daily to ensure that the placement is correct and the birds behave normal. Under normal conditions we understand when birds engage in social interaction, foraging, walking, and flying like they do previous to mounting the transmitters. Excessive preening of the feathers is expected at first but should cease within the first hour. Birds that seem not capable of getting used to wearing a transmitter after this period will be returned to the field without a transmitter.

#### 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.

We decide to humanly euthanize an experimental bird when birds fall due to a state in which humanly ending the bird is preferred to prevent further severe discomfort. This may happen when birds show strong signs of suffering visible in sudden decreases in weight, standing (or laying) isolated from the group for no reason, standing with puffed up feathers. Or when injuries occur on legs, wings or head from which they suffer and we know that they will never fully recover. The method of chose to euthanize the experimental birds is by means of Carbon Dioxide.

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

Long term experience with knots in captivity taught us that the amount of birds that reach this endpoint is between 7-10 %.

#### 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.

Because not all experimental animals participate in all types of animal procedures of the project the total amount of discomfort varies between individuals (Fig. 2). No levels of discomfort are added for the manipulation of *canutus* individuals and the possible subsequent mixing of the subspecies. We feel like that the degradation of the integrity of the manipulated *canutus* individuals and the two subspecies in general is negligible in the light of the mixing of the subspecies that naturally occurs. On top of that, the development and flexibility in flyway inhabitation is actually one of the core topics of this project. The data collected here, on knots equipped with state-of-the-art transmitters, will have to provide us with the key observations in the field of developmental biology of migratory behavior!

Group A (juveniles of the *canutus* subspecies; 17% of total): Caught with walk-in traps they experience only mild discomfort, subsequently they will be held captive for two years and participate in personality tests (mild), at their release they are mounted with the transmitter. At the moment of mounting the transmitter they will experience moderate discomfort for a couple of days, until it decrease to mild discomfort again.

Group B & C (Adults and juveniles of the *canutus* subspecies; 35% of total): Will go through the exact same procedures as group A but will only be held captive for one year. These birds will experience moderate discomfort for a couple of days, until it decreases to mild discomfort again.

Group D (Juveniles of the *canutus* subspecies; 11% of total): Will be caught with walk-in traps (mild) and released with the transmitter. At that moment they will experience moderate discomfort for a couple of days, until it decrease to mild discomfort again.

Group E & F (Adults and juveniles of the *islandica* subspecies 35% of total): Will be caught in mist nets imposing moderate discomfort at that time. Subsequently they will be held captive for two years and participate in the personality tests (mild), afterwards they will be released to the wild equipped with color rings for individual identification (no discomfort).

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee > Ga verder met de ondertekening.

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

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



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee

Postbus 59

1790 AB DEN BURG



**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  
AVD802002016740

**Bijlagen**

2

Datum 6 februari 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED],

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 6 februari 2017. Het gaat om uw project "The Ontogeny of Migratory Routines in Red Knots". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD802002016740. 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](http://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

**Datum:**

6 februari 2017

**Aanvraagnummer:**

AVD802002016740

**Datum:**  
6 februari 2017  
**Aanvraagnummer:**  
AVD802002016740

### **Gegevens aanvrager**

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 80200  
Naam instelling of organisatie: Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee  
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: [REDACTED]  
KvK-nummer: 41240385  
Straat en huisnummer: Landsdiep 4  
Postbus: 59  
Postcode en plaats: 1790 AB DEN BURG  
IBAN: NL69ABNA0642374252  
Tenaamstelling van het rekeningnummer: St. NIOZ

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]  
Functie: Senior Research Scientist  
Afdeling: Coastal Systems  
Telefoonnummer: 0222 369485  
E-mailadres: [REDACTED]

**Datum:**  
6 februari 2017  
**Aanvraagnummer:**  
AVD802002016740

Gegevens verantwoordelijke uitvoering proces

Naam: [REDACTED]  
Functie: [REDACTED]  
Afdeling: [REDACTED]  
Telefoonnummer: [REDACTED]  
E-mailadres: [REDACTED]

**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: 1 april 2017  
Geplande einddatum: 1 april 2022  
Titel project: The Ontogeny of Migratory Routines in Red Knots  
Titel niet-technische samenvatting: De ontwikkeling van migratie routines in kanoeten  
Naam DEC: [REDACTED]  
Postadres DEC: [REDACTED]  
E-mailadres DEC: [REDACTED]

**Betaalgegevens**

De leges bedragen: € 1035,-  
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

**Checklist bijlagen**

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

**Ondertekening**

Naam: [REDACTED]  
Functie: [REDACTED]  
Plaats: 't Horntje  
Datum: 11 januari 2017

**Datum:**  
6 februari 2017  
**Aanvraagnummer:**  
AVD802002016740



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee

Postbus 59

1790 AB DEN BURG



**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  
AVD802002016740

**Bijlagen**

2

Datum 6 februari 2017

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 6 februari 2017

Vervaldatum: 8 maart 2017

Factuurnummer: 170740

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD802002016740	€ 1035,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 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

Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee

Postbus 59

1790 AB DEN BURG



**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  
AVD802002016740

Datum 13 februari 2017

Betreft aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED],

Op 6 februari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "The Ontogeny of Migratory Routines in Red Knots" met aanvraagnummer AVD802002016740. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

### **Welke informatie nog nodig**

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

### **Onduidelijkheden**

Bij Humane eindpunten staat de volgende zin:

"We decide to humanly euthanize an experimental bird when birds fall due to a state in which humanly ending the bird is preferred to prevent further severe discomfort."

Kunt u aangeven wat u bedoelt met "fall due to a state"?

De aantallen dieren in de NTS zijn anders dan in de bijlage dierproeven. Breng deze in overeenstemming met elkaar.

In de NTS staan een aantal verbeteringen/doorgehaalde zinnen.

Werk deze bij en stuur de NTS opnieuw in.

Dit kunt u doen als PDF via de mail, beveiligde mail (Net FTP) of per post.

**Leges**

De leges die u verschuldigd bent zijn nog niet door ons ontvangen of de betaling is nog niet verwerkt. Uw aanvraag is niet compleet als de leges niet zijn ontvangen.

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

**Datum:**

13 februari 2017

**Aanvraagnummer:**

AVD802002016740

**Opsturen binnen veertien dagen**

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Stuurt u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

**Wanneer een beslissing**

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

**Meer informatie**

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven



## Melding bijlagen

U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg altijd deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt. Meer informatie vindt u op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl) Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

### 1 Uw Gegevens

Naam instelling: Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee

Adres: .....

Postcode en plaats: .....

Aanvraagnummer: AVD802002016740

### 2 Bijlagen

Welke bijlagen stuurt u mee?

Vink de bijlagen aan of vul de naam of omschrijving in.

Projectvoorstel

Beschrijving Dierproeven

Niet-technische samenvatting

Melding Machtiging

Aanvraagformulier

.....

.....

.....



**Datum:**

13 februari 2017

**Aanvraagnummer:**

AVD802002016740

**3 Ondertekening**

Naam: .....

Datum: ..... - ..... - .....

Handtekening: .....

Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:  
Centrale Commissie Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag

**Projectnummer: NIOAVD802002016740(2016-001)**

**Bijlage bij correspondentie d.d. 28 december 2016 t.b.v. completeren van de aanvraag:**

**Vragen/opmerkingen:**

Algemeen:

1) Het formele aanvraagformulier voor een projectvergunning met de administratieve gegevens ontbreekt nog bij de projectaanvraag.

Onze excuses, het is bij deze toegevoegd.

Projectvoorstel:

1) Punt 3.3. De zinsnede '*formulating concrete conservation goals for the habitat of knots and other waders*' zou bij 2.1 ook het aankruisen van de categorie '*Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier*' mogelijk rechtvaardigen. De commissie is er in haar afweging vanuit gegaan dat het huidige projectvoorstel primair een fundamenteel wetenschappelijk belang dient.

Correct, zinsnede '*formulating concrete conservation goals for the habitat of knots and other waders*' verwijderd uit projectvoorstel.

Bijlage 1:

1) Een belangrijk punt dat nader in de project aanvraag en in ieder geval in de bijlage aan de orde dient te komen zijn de consequenties in termen van aantasting van de integriteit ten gevolge van de in het kader van dit experiment uitgevoerde handelingen. Er wordt voorgesteld een groep dieren (juvenile en adulte *C. canutus* dieren) gedurende 1 of 2 jaar in gevangenschap te houden en ze daar bloot te stellen aan de klimaat omstandigheden en het gezelschap van een verwante soort (*C. islandica*) die een heel andere migratieroute heeft. Het is de hoop/verwachting dat deze 'manipulatie' erin zal resulteren dat de *C. canutus* dieren nadat ze losgelaten zijn de *C. islandica* migratieroute zullen gaan volgen en uiteindelijk niet in hun 'eigen' broedgebied belanden, maar in dat van de *C. islandica*. Nog afgezien van eventuele ongeriefaspecten beschouwt de commissie deze ingreep als een ingrijpende aantasting van de integriteit van de betreffende individuen en de beide soorten. In theorie zou het mogelijk kunnen zijn dat deze individuen ten gevolge van dit experiment de rest van hun leven een voor de soort 'verkeerde' migratieroute gaan volgen en mogelijk hun hele leven daardoor niet meer betrokken zijn bij de reproductie van de soort.

Het is waarschijnlijk zelfs niet uit te sluiten dat omdat de geografische barrière tussen de beide soorten 'opgeheven' wordt er hybriden zouden kunnen ontstaan. De commissie beschouwt deze aantasting van de integriteit onderdeel van de ethische afweging. De commissie verzoekt de indieners ook aan te geven of deze 'foutieve inprenting' ook welzijnsconsequenties voor de betreffende vogels zou kunnen hebben. Deze aspecten dienen dan ook explicieter te worden opgenomen in de projectaanvraag.

- Op welke schaal komt het onder normale omstandigheden voor dat *C. canutus* vogels met *C. islandica* groepen mee vliegen en dus uiteindelijk op de verkeerde broed locatie belanden? Met andere woorden wordt er met het voorgestelde experiment gekeken naar een situatie die onder natuurlijke omstandigheden ook optreedt?

In de project aanvraag punt 3.1 wordt uitgebreid stilgestaan bij het natuurlijk voorkomen van vogels van de ene ondersoort op de vliegroute van de andere ondersoort. Het komt er op neer dat er verscheidene waarnemingen zijn die er op wijzen dat vogels van de ene ondersoort voorkomen op de vliegroute van de andere soort maar dat de frequentie

hiervan erg moeilijk in te schatten is op basis van ring aflezingen. Zo zijn er wel vogels afgelezen worden in IJsland en Noord-Noorwegen die geringd zijn in Mauretanie, en ook andersom vogels die geringd zijn in winter in de Waddenzee die terug gezien worden langs de Baltische kust maar dit kunnen nog steeds vogels zijn die wel trouw zijn aan het broedgebied van hun ondersoort, maar een kleine omweg maken op weg daar naar toe. Er zijn nog nooit vogels waargenomen langs de extreme (broedgebied of Afrikaans wintergebied) van de verkeerde vliegroute maar dit is mogelijk het rechtstreeks resultaat van het feit dat er door praktische obstakels geen vogels geringd/afgelezen worden op de broedgebieden.

Dus om uw vraag, op welke schaal het onder normale omstandigheden voor komt dat *canutus* vogels op de *islandica* broedlocatie belanden, hebben wij geen antwoord. Echter, de recente ontwikkeling van lichte zenders op zonneenergie stellen ons in staat om migrerende kanoeten te volgen, en met name dit soort vragen te beantwoorden. De experimenteel onderbouwde waarnemingen aan gezenderde kanoeten zullen de sleutelwaarnemingen moeten opleveren voor het hele project aan de ontwikkelingsbiologie van trekgedrag!

- Zijn er aanwijzingen dat de er hybriden *canutus/islandica* kunnen ontstaan?

In de eerste plaats: er is geen vogelsoort in de wereld gevonden waarbij de op grond van morfologie te onderscheiden ondersoorten ZO genetisch identiek zijn. De kanoeten wereldwijd zijn dus net geen kloon, bij wijze van spreken [REDACTED]

Naar ons beste weten is het niemand gelukt om kanoeten in gevangenschap te laten voortplanten. Hierdoor is het ook onbekend of vogels van verschillende ondersoorten nakomelingen kunnen voortbrengen. Echter, gezien het feit dat de 6 ondersoorten genetisch amper te onderscheiden is er geen reden om aan te nemen dat er geen gezonde hybriden nakomelingen kunnen ontstaan.

- Hoe kijken de indieners zelf tegen dit aantasting van de integriteit aspect aan?

Wij beschouwen de de manipulatie van de *canutus* juvenielen waardoor zij niet naar het oorspronkelijke broedgeboed van de *canutus* ondersoort vliegen maar naar het broedgebied van de *islandica* ondersoort als een verwaarloosbare aantasting van hun integriteit omdat wij denken dat dit in de praktijk ook zal plaatsvinden bij jonge vogels die vanwege voedselgebrek of andere tegenspoed niet in staat zijn om op tijd naar West Afrika door te vliegen.

Wanneer de manipulatie van *canutus* juvenilen slaagt gaan wij er van uit gaan dat hun mogelijkheid tot reproductie niet aangetast wordt.

- Dient, volgens de indiener, als gevolg van deze integriteitsaantasting de classificatie van het cumulatieve ongerief heroverwogen te worden?

Nee, maar bovenstaande overwegingen zijn verwerkt in de Bijlage 1. Punt i & k.

- 2) De tuigjes waarmee de zender aan de vogel wordt bevestigd zijn niet voorzien van een gepreformeerde breukplaats. Er wordt daarmee een situatie gecreëerd waarbij de vogels in principe hun hele verdere leven rond zullen vliegen met een zender. Dus ook langer dan eigenlijk voor het experiment noodzakelijk is en waarschijnlijk ook langer dan de levensduur van de zender. Dit kan vooral voor de juveniele vogels een zeer groot aantal jaren zijn, waarvan een (groot) gedeelte waarschijnlijk de zender niet meer functioneert. Ook hier speelt naast mogelijke ongerief aspecten, een mogelijke verhoogde predatiekans en energetische aspecten gedurende de migratie, zeker ook het aspect van integriteit een rol. De indieners worden verzocht aan te geven op basis van welke overwegingen zij besloten hebben geen

tuigjes te gebruiken die na verloop van tijd vanzelf afvallen en tevens waarom zij de nu voorgestelde situatie (dieren die hun hele verdere leven een tuigje met een zender omhebben) acceptabel achten.

De tuigjes waarmee wij de zender aan de vogel bevestigen zijn een geïntegreerd onderdeel van de zender en functioneren niet alleen als bevestigingsmateriaal maar zorgen tevens voor het aarden van het signaal. Door deze specifieke functie is het niet mogelijk een geperforeerde breukplaats toe te passen. Echter, het geïntegreerde tuigje is vervaardigd uit een geleidend metaal bedekt met een gladde plastic beschermlaag. Hoewel wij alleen kunnen speculeren over de exacte levensduur verwachten wij dat het tuigje na afzienbare tijd door corrosie van het metaal af zal vallen. Dus hoewel wij niet proactief een breukplaats aanbrengen gaan wij er wel degelijk van uit dat de zenders na verloop van tijd afvallen. Echter, wij hopen dat het tuigje het NIET gaat begeven en wel om de volgende reden: de in gebruik zijnde [REDACTED] solar satellite tags blijken in de praktijk heel veel jaren mee te gaan (het record staat nu op 8 jaar bij een Amerikaanse langsnavelwulp, [REDACTED] [REDACTED] [REDACTED]). In de praktijk van de laatste jaren verliezen wij 'zenders' ofwel door het begeven van het tuigje (zie hierboven), ofwel het sterven van de vogel. Er zijn bij ons geen gevallen bekend waarbij bij een goed uitgeruste vogel de zender niet meer functioneert: bedenk dat we in veel zenderwerk populaties bestuderen waarvan verreweg de meeste individuen ieder jaar op grond van hun kleurringcombinaties worden terug gezien! We zouden niet-functionerende zenders dus wel degelijk ontdekken. In ons werk aan grutto's (vanuit de RUG) zijn er de vogels Amalia en Badajoz die nu voor de 5<sup>e</sup> keer bezig zijn met de reis naar het noorden.

Vanuit de optiek van het instituut, en de lange termijn visie die we daar op dit onderzoek hebben, hopen we stiekem op individuen die we geen twee jaar maar wel 5-10 jaar volgen, 'voorbij' het huidige promotie-onderzoek. Alleen al om deze reden is het belangrijk dat zenderwerk wordt uitgevoerd aan instituties die onderzoek van lange adem in de lucht proberen te houden.

- 3) Aangegeven is dat er bij de controle groep D dieren (die uitgerust worden met een zender en direct weer worden losgelaten) sprake zal zijn van een verlies van 15%. Het is niet duidelijk waar dit percentage op is gebaseerd. Is dit gelijk aan de natuurlijke sterfte of wordt er ook rekening gehouden met verhoging van de uitval door het dragen van een zender? De indieners worden verzocht in beide gevallen het antwoord te onderbouwen. Deze 15 procent is onjuist. De eigenlijke berekening is gebaseerd op het feit dat een extra 5% van vogels die uiteindelijk gezenderd zullen worden gedragsmatig niet kunnen wennen aan het dragen van de zender, plus 10% aan vogels die fysiek ongeschikt worden bevonden om uitgerust te worden met een zender. Bijvoorbeeld omdat de slagpennen geruid worden. Natuurlijke sterfte of de verhoging van uitval door het dragen van de zender wordt hier buiten beschouwing gelaten. De berekening die de uitval van individuen tijdens de gedragsexperimenten en het zenderen combineert luidt als volgt:
- $$30 \text{ (=uiteindelijk aantal dieren om te zenderen)} * 100/90 \text{ (10\% uitval door ziekte)} * 100/95 \text{ (5\% uitval door missing data)} * 100/99 \text{ (1\% uitval door geen diet switch)} * 100/90 \text{ (10\% fysiek ongeschikt voor zenderen)} * 100/95 \text{ (5\% gedragsmatig ongeschikt voor zenderen)} = 41.45 \text{ dieren per groep waar we mee starten. Dit is gespecificeerd in de Bijlage, vraag A.}$$
- 4) Vraag A. Voor het bepalen van het uiteindelijk aantal dieren wordt er rekening gehouden met verschillende oorzaken van uitval. Dit lijken in principe onafhankelijk van elkaar optredende omstandigheden te zijn. Het optellen van percentages is in dat geval dan ook niet juist. De berekening is aangepast omdat het over onafhankelijk van elkaar optredende

omstandigheden gaat.

$35$  (=uiteindelijk aantal dieren) \*  $100/90$  (10% uitval door ziekte) \*  $100/95$  (5% uitval door missing data) \*  $100/99$  (1% uitval door geen diet switch) =  $41.39$  (is zeg maar  $42$  (i.p.v. volgens de 'oude' berekening  $40$ ) dieren per groep waar we mee starten).

- 5) Vraag A/B: Wordt er bij het samenstellen van de experimentele groepen ook rekening gehouden met de sekse van de dieren? Graag deze keuze nader onderbouwen.  
Bij het samenstellen van de groepen wordt er geen rekening gehouden met de sekse van de dieren. In de eerste plaats doen we dit niet omdat we geen verschillen verwachten in de uitkomsten tussen de verschillende sexe. Kanoeten van beide geslachten zijn op het oog niet van elkaar te onderscheiden en vertonen geen extreme verschillen in gedrag of migratie. Daardoor verwachten wij geen verschillen te vinden in de ontwikkeling van persoonlijkheden of migratie strategie tussen de verschillende geslachten. Daarbij gaan wij er bij het random indelen van de groepen van uit dat alle groepen ongeveer gelijke aantallen mannen en vrouwen bevatten. Dit is gespecificeerd in de Bijlage, Vraag B.
- 6) Vraag G: De aangevraagde projectvergunning kan alleen betrekking hebben op experimenten die in Nederland worden uitgevoerd en kunnen nooit een dierproef in Gdansk 'afdekken'. Het noemen in deze vraag van de handelingen en huisvesting in Gdansk is dan ook juridisch niet juist. De commissie gaat er vanuit dat het vangen en huisvesten van de dieren in Polen afgedekt wordt door een vergunning in Polen. In het antwoord op vraag B is al aangegeven dat de dieren als herkomst Polen hebben. In de projectaanvraag staat ook aangegeven waarom deze herkomst voor het experiment noodzakelijk is.  
Aangepast. Het vangen en huisvesten van kanoeten in Polen is afgedekt door Poolse vergunningen.

#### NTS:

- 1) Punt 3.1: De commissie acht de zinsnede '*Een eigenschap die nu, en in de toekomst van groot belang zal zijn omdat het leefgebied van de kanoeten ernstig bedreigd wordt door menselijke verstoringen*' wat moeilijk te plaatsen in de context van dit project.  
Verwijderd
- 2) Punt 3.6: Aangegeven dat de dieren voor het vrijlaten een uitwentraject doorlopen.  
Aangepast

## Format DEC-advies

---

*Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de Praktische Handreiking: Ethisch Toetsingskader voor proefdiergebruik. Voor voorbeelden, zie bijlage I.*

*Herhaling van antwoorden is niet nodig. Indien van toepassing kan verwezen worden naar een bij een eerdere vraag verstrekt antwoord.*

### A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD802002016740
  2. Titel van het project: The Ontogeny of Migratory Routines in Red Knots
  3. Titel van de NTS: De ontwikkeling van migratie routines in kanoeten
  4. Type aanvraag:
    - X nieuwe aanvraag projectvergunning
  5. Contactgegevens DEC:
    - naam [REDACTED]
    - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
    - e-mailadres contactpersoon: [REDACTED]
  6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
    - ontvangen door DEC: 30-11-2016
    - aanvraag compleet: 11-01-2017
    - in vergadering besproken: 19-12-2016
    - anderszins behandeld
    - termijnonderbreking(en) van 28-12-2016 tot 11-01-2017
    - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen NVT
    - aanpassing aanvraag: 11-01-2017
    - advies aan CCD: Het advies is 22-01-2017 naar de aanvrager gestuurd.
  7. De inhoud van dit project is afgestemd met de IvD van de instelling.
- Bij de punten 8 t/m 10 kan worden volstaan met 'n.v.t.' wanneer de betreffende acties niet aan de orde zijn geweest.*
8. Eventueel horen van aanvrager: NVT
  9. Correspondentie met de aanvrager
    - Datum 28-12-2016
    - Gestelde vraag/vragen
      - Aankruisen van de doelcategorieën
      - Nadere toelichting op de aantasting van de integriteit van de vogels
      - Nadere toelichting en onderbouwing gebruik type tuigjes
      - Nadere toelichting en onderbouwing van de uitval gedurende experiment.
      - Nadere toelichting onderbouwing berekening aantal dieren
      - Rekening houden met mogelijke geslachtsverschillen
      - Herkomst van de dieren
      - Doelstelling in NTS
      - Nadere toelichting uitwentraject dat dieren voor vrijlaten doorlopen

- Datum antwoord: 11-01-2017
- Verstrek(t)e antwoord(en): Alle vragen/opmerkingen werden afdoende en overtuigend beantwoord en zijn verwerkt in de bijgestelde projectaanvraag.
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag

10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC): NVT

## **B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)**

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Geen van de DEC-leden is betrokken bij het betreffende project of de aanvrager. Een van de leden adviseert de instelling in algemene zin over dierproeven en het wettelijk kader.

## **C. Beoordeling (inhoud)**

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft (*Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld*). De aanvraag betreft in feite 1 experiment waarin met dezelfde vogels twee verschillende aspecten worden onderzocht: *'verschillen in trekgedrag worden vastgelegd door ervaringen op jonge leeftijd'* en *'vogels met verschillende persoonlijkheden (of voorkeuren) hebben verschillende foerageerstrategieën waaraan zij zich fysiologisch aanpassen'*. Voor het behalen van de uiteindelijke doelstellingen zijn de uitkomsten van beide studies van belang en ook dat deze uitgevoerd zijn op dezelfde dieren. Het is helder welke handelingen individuele dieren zullen ondergaan. Hierdoor is ook duidelijk welk ongerief individuele dieren zullen ondergaan als gevolg van de handelingen. De volgorde van de handelingen is logisch en helder beschreven. De milestones en selectiecriteria die hierbij van toepassing zijn en gebruikt worden zijn helder beschreven. De DEC is er van overtuigd dat er gedurende de looptijd van het experiment op het instituut op zorgvuldige wijze besluiten zullen worden genomen over de voortgang van het onderzoek en dat er niet onnodig dieren zullen worden gebruikt.
2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Flora- en faunawet).  
  
De instelling beschikt over alle ontheffingen in het kader van de Wet Natuurbescherming. Daar waar onderdelen van het project in een andere EU-lidstaat plaatsvinden worden zijn aldaar de geldende toestemmingen van toepassing.
3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelestellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel.  
De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling.

### **Belangen en waarden**

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C4; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Het uiteindelijke doel van dit onderzoek is inzicht te krijgen in welke mate genetische en aangeleerde eigenschappen verschillen in gedrag en de keuze voor bepaalde trekroutes bepalen. Dit zou een indruk geven in de mechanismen die ten grondslag liggen aan het ontstaan van verschillen tussen verschillende soorten.

Het project richt zich op drie directe doelen:

1. In hoeverre wordt het trekgedrag in kanoetstrandlopers beïnvloed door ervaringen die de vogels hebben opgedaan tijdens hun eerste migratie periode en de daaropvolgende winter?
2. In hoeverre worden consistente verschillen in gedrag (personalities) bepaald door eerdere ervaringen zijn deze effecten verschillend voor jonge en oude dieren?
3. Zijn er verschillen tussen dieren met verschillende personalities in de wijze waarop vroege ervaringen de keuze voor een migratieroute bepalen?

De DEC is van mening dat er een reële relatie is tussen de directe doelen en het uiteindelijke doel. Bovendien is zij van mening dat zowel het uiteindelijke doel als de directe doelen in wetenschappelijke zin gerechtvaardigd zijn zowel in bredere zin als binnen het betreffende onderzoeksveld

De onderzoeksgroep heeft zeer veel ervaring met dit type onderzoek. Het is aannemelijk dat de resultaten uit de experimenten beschreven in deze project een substantiële bijdrage zullen leveren aan het behalen van de uiteindelijke doelstelling.

5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*)

De belangrijkste belanghebbenden in deze projectaanvraag zijn de proefdieren, de betreffende ondersoorten, de wetenschap en de onderzoekers.

Voor de proefdieren geldt dat hun welzijn wordt aangetast. Door de huisvesting op het instituut zullen de dieren beperkt worden in hun natuurlijk gedrag. Gedurende de experimenten zullen zij stress ondervinden. De dieren hebben er belang bij hiervan gevrijwaard te blijven.

De commissie heeft uitgebreid stilgestaan in hoeverre er sprake is van een aantasting van de integriteit van de betreffende vogels door de mogelijke imprinting op een andere migratie route waardoor zij belanden in hun niet natuurlijke voortplantingsgebied en er mogelijk kruisingen zouden kunnen optreden met de verwante ondersoort. Gezien het feit dat dit ook op natuurlijke wijze al kan plaats vinden ziet de DEC dit niet als een wezenlijke aantasting van de integriteit van het individuele dier of de ondersoort (zie ook punten 6 en 12)

Voor de wetenschap is het belang dat de resultaten toegankelijk worden voor een zo groot mogelijk onderzoeksveld en daarom gepubliceerd worden in high-rank tijdschriften en uitgedragen worden op congressen.

Voor de onderzoekers geldt dat het publiceren van belangrijke nieuwe wetenschappelijke inzichten een bijdrage levert aan hun wetenschappelijke reputatie en status, wat vaak de sleutel is voor het verkrijgen van nieuwe onderzoeksmiddelen en mogelijkheden. Carrière mogelijkheden en status kunnen door de onderzoekers zelf van belang geacht worden, maar dienen naar de mening van de DEC geen rol te spelen in de ethische afweging over de toelaatbaarheid van het gebruik van proefdieren. Het gaat uiteindelijk om de vraag of dit onderzoek belangrijke wetenschappelijke en maatschappelijke doelen dient (kennis, belang voor soort en milieu).



6. Geef aan of er sprake kan zijn van substantiële milieueffecten. Zo ja, benoem deze, leg uit waarom daar sprake van kan zijn en geef aan of deze effecten afgedekt worden door specifieke wet- en regelgeving op het gebied van het omgaan met voor het milieu risicovolle stoffen of organismen.

De commissie heeft zich afgevraagd of er ten gevolge van dit experiment dieren van een ondersoort belanden in een voor die ondersoort niet 'natuurlijk' voortplantingsgebied met de kans op hybridisatie met de andere ondersoort sprake is van een substantieel milieueffect.

Onder natuurlijke omstandigheden komt het ook voor dat individuen van de ene ondersoort de route van de andere ondersoort kiezen en dus mogelijk belanden in een 'niet natuurlijk' broedgebied. Dit is geconstateerd op tussenstops. Door praktische obstakels en slechte toegankelijkheid kunnen er geen ringen worden afgelezen in de broed gebieden zelf om dit op grote schaal te kunnen valideren. Omdat dit afwijkend trekgedrag dus zeer waarschijnlijk onder natuurlijke omstandigheden ook optreedt, is de commissie van oordeel dat er ten gevolge van de in dit project beschreven experimenten geen sprake is van substantiële milieueffecten.

### **Proefopzet en haalbaarheid**

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C5*).

Het onderzoek van de onderzoeksgroep is van excellente kwaliteit. De groep heeft een wereldwijde reputatie en heel veel ervaring met het lange tijd in gevangenschap houden van steltlopers onder condities waarna de dieren na een uitwenperiode weer succesvol kunnen worden losgelaten en overleven in het wild.

Er is ervaring met de kleine lichte zenders.

Er is ervaring met procedures rond het bepalen van personalities en de testen van de adaptatie van de spiermaag met behulp van dieetwisselingen.

8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*).

De experimenten zijn goed opgezet (logische experimentele en controle groepen) en sluiten logisch en helder aan bij de aangegeven doelstellingen. De gekozen strategie biedt uitzicht op het behalen van deze doelstellingen. Na het aanbrengen van de zender worden de dieren nog enige tijd in gevangenschap geobserveerd, waardoor non-copers tijdig kunnen worden herkend en zonder zender worden uitgezet.

### **Welzijn dieren**

9. Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Beoordeel of de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk is onderbouwd en of de aanvrager voldoet aan de in de Wet op de Dierproeven (Wod). voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C1; zie bijlage I voor toelichting en voorbeelden*).

- Bedreigde diersoort(en) (10e, lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)

- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e, lid 2)
- X Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV richtlijn (13c, lid 3)

Er is sprake van onderzoek met wilde dieren uit het wild. De betreffende dieren zijn de doelsoort van het onderzoek. Gezien de doelstelling van het onderzoek (o.a. migratiegedrag) kan dit niet op andere wijze, ook niet met gehouden soortgenoten, worden onderzocht. Deze keuze is voldoende wetenschappelijk onderbouwd en past in een lange onderzoekstraditie van de onderzoeksgroep met de betreffende soorten. Na afloop van de laboratorium experimenten worden de dieren na een uitwenperiode weer vrijgelaten.

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe.

De huisvesting en verzorging van de dieren zijn conform de eisen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Er zijn voor de betreffende (onder)soorten geen gedetailleerde huisvestingseisen beschreven. De onderzoeksgroep heeft een zeer lange en succesvolle historie in het zeer langdurig huisvesten van de verschillende soorten kanoeten en andere steltlopers.

11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*).
- Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Deze inschattingen zijn gebaseerd op lange termijn ervaring met dit soort experimenten met de betreffende soort. Doordat voor deze studie gebruik gemaakt wordt van zeer lichte zenders en de non-copers al in een heel vroeg stadium uit het experiment worden gehaald is het de verwachting dat het langdurig dragen van een zender zal resulteren in niet meer dan een geringe welzijnsaantasting.
12. Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). (*zie bijlage I voor voorbeeld*).
- De integriteit van de dieren wordt aangetast door het instrumentele gebruik (de experimenten in het lab en het uitrusten met een zender) en het huisvesten van wilde dieren in gevangenschap. Bij een deel van de dieren is sprake van imprinting op het kiezen van een andere migratieroute dan die ze normaal zouden kiezen. Omdat de dieren daarmee in een voor de betreffende soort niet natuurlijk voortplantingsgebied komen en de genetische verschillen tussen de verschillende kanoeten soorten zeer klein zijn is er een kans op hybridisatie. Zoals ook al aangegeven in het antwoord op vraag 6 komt het onder natuurlijke omstandigheden ook voor dat individuen van de ene soort meevliegen met de andere soort. Omdat de frequentie hiervan niet precies bekend is, maar het in dit experiment om een ten opzichte van de totale populatie zeer klein aantal dieren gaat is de commissie tot de conclusie gekomen dat er tengevolge van deze imprinting zowel op het niveau van de soort als op het niveau van de individuele vogel geen sprake is van een substantiële aantasting van de integriteit.
- Op basis van de ervaring in de afgelopen tientallen jaren met zeer veel vogels leidt de aantasting van de integriteit door het huisvesten op het instituut niet tot abnormaal gedrag en een bovennatuurlijke uitval in de periode nadat de dieren na een gestandaardiseerde uitwenperiode weer vrijgelaten zijn in hun biotoop.

13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De criteria voor humane eindpunten zijn primair gericht op het voorkomen van onnodig en te veel ongerief bij de betrokken dieren. Deze zijn voldoende specifiek gedefinieerd en toegesneden op de experimenten. Het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken is op basis van eerdere ervaringen met dit diermodel realistisch ingeschat. Dit zal vooral het geval zijn in de periode kort na het aankomen op het instituut.

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Er zijn nog geen diervervangende methoden beschikbaar voor het bereiken van de gestelde doelen. Het betreft onderzoek aan de doelsoort.

15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

Alle verminderingsalternatieven worden toegepast. De groepsgroottes zijn gebaseerd op de jarenlange ervaring van de onderzoeksgroep met vergelijkbare experimenten. Hiermee zijn de aantallen realistisch ingeschat.

16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De uitvoering van de in dit project beschreven experimenten is in overeenstemming met de vereiste van de verfijning van dierproeven.

Dieren worden uitgebreid gewend aan het in de handen zijn. Dit verloopt bij de betreffende soort gewoonlijk goed. Hierdoor is de welzijnsaanstasting ten gevolge van het participeren in de laboratorium experimenten minimaal.

Er wordt gebruik gemaakt van zenders met een gewicht dat onder de algemeen geldende norm ligt. De commissie heeft uitgebreid stil gestaan bij de omstandigheid dat er in de tuigjes waarmee de zender wordt bevestigd geen gepreformeerde breukplek aanwezig is. Zie ook het antwoord op vraag D.2

17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe.

Het betreft geen wettelijk vereist onderzoek.

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in

voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd. (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*; zie *bijlage I* voor voorbeeld).

Bij het samenstellen van de groepen wordt er geen rekening gehouden met het geslacht van de dieren. In de eerste plaats omdat er geen aanwijzingen zijn voor geslachtsverschillen in gedrag of migratie. Daar komt bij dat bij kanoeten de beide geslachten op het oog niet van elkaar te onderscheiden zijn en dus hiervoor nadere invasieve handelingen nodig zouden zijn.

19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geef ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De dieren worden niet gedood in het kader van het experiment. In theorie loopt het experiment door tot de vogel overleden is, het tuigje afgevallen is of de zender niet meer functioneert.

20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is.

Er worden in deze projectaanvraag geen landbouwhuisdieren, honden, katten of niet-humane primaten gedood om niet-wetenschappelijke redenen.

#### **NTS**

21. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?

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

## **D. Ethische afweging**

1. Benoem de centrale morele vraag (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*).

Rechtvaardigt het belang van de doelstelling van het project de aantasting van hun integriteit en het ongerief dat de dieren wordt aangedaan, en is tegemoet gekomen aan alle zorgvuldigheidseisen (3V's)?

2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn, ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van **gering, matig of veel/ernstig voordeel of**

**nadeel.**

Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.B; zie bijlage I voor voorbeelden*).

De dieren zullen afgezien van het vangen met niet meer dan gering ongerief worden geconfronteerd. De doelstellingen kunnen niet zonder het gebruik van dieren behaald worden. De onderzoekers hebben alle maatregelen en voorzorgen genomen om onnodig lijden van de dieren te voorkomen en het aantal dieren te beperken.

De commissie heeft in het kader van de aantasting van de integriteit uitgebreid stil gestaan bij de consequenties van het langdurig huisvesten van wilde vogels op het instituut, het imprints op niet soort specifiek gedrag en de keuze om geen gebruik te maken van tuigjes zonder een gepreformeerde breukplaats.

De onderzoeksgroep heeft wereldwijd een goede reputatie met betrekking tot het huisvesten van wilde kanoeten. Als onderdeel van het langlopende monitoring programma van de onderzoeksgroep in het veld is duidelijk geworden dat kanoeten die langdurig op het instituut zijn gehuisvest succesvol in hun biotoop kunnen worden teruggezet. Er zal gebruik gemaakt worden van een beproefd uitwentraject.

Bij de overwegingen rond het kiezen van een andere dan het 'soort specifieke' migratiepatroon heeft een belangrijke rol gespeeld de omstandigheid dat bij de betreffende soorten dit soort 'foute' keuzes ook onder natuurlijke omstandigheden voorkomen.

De tuigjes waarmee de zenders aan de vogel bevestigd worden zijn een geïntegreerd onderdeel van de zender en functioneren niet alleen als bevestiging maar zorgen tevens voor het aarden van het signaal. Door deze specifieke functie is het niet mogelijk een gepreformeerde breukplaats aan te brengen. Het is echter de verwachting dat door corrosie van het metaal het tuigje op een gegeven moment zal afvallen. De commissie acht verder een belangrijke overweging bij de afweging rond het al of niet aanbrengen van een gepreformeerde breukplaats, dat de huidige zenders uitgerust zijn met zonnecellen en onder normale omstandigheden vele jaren gegevens blijven verzamelen. Voor de voorgestelde [REDACTED] solar satellite tags staat het record inmiddels op 8 jaar. Binnen het huidige onderzoeksprogramma worden verreweg de meeste individuen ieder jaar op grond van hun kleurringcombinaties terug gezien en is er dus een goed zicht op het afvallen of niet meer functioneren van de zender.

Vanuit de lange termijn visie van de onderzoeksgroep is er de hoop de vogels meer dan de nu beoogde 2 jaar te kunnen volgen. Omdat dit onderzoek uitgevoerd wordt door een instelling met een jarenlange ervaring met het langdurig monitoren van kanoeten is er de zekerheid dat gedurende de hele periode dat de zenders werken (ook als dit langer is dan de in dit project beschreven experimenten) van de betreffende vogels data zullen worden verzameld en geanalyseerd.

Met een dergelijke lange observatie periode kan de maximale vergunning termijn overschreden worden. Overwegende dat er geen verdere handelingen meer aan de dieren worden verricht, en dat op dat moment de nog met een werkende zender uitgeruste dieren daar ook geen nadeel van betekenis meer van ondervinden, is het naar het oordeel van de DEC aanvaardbaar om daarvoor de vergunningplicht niet van toepassing te verklaren en deze dieren de status 'vrijgelaten' te verlenen. (kans op ongerief onder de drempelwaarde).

3. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden. Maak daarnaast gebruik van de volgende moreel relevante feiten: belang onderzoek (C4), kennis en kunde van betrokkenen (C7), haalbaarheid doelstellingen (C8), categorieën en herkomst dieren (C9), 3V's (C14-C18), ongerief (C10-13 en C19) en relevante wet en regelgeving (C2). Onderbouw hoe al deze elementen zijn meegewogen bij de beantwoording van de centrale morele vraag, zodanig dat het navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.C; zie bijlage I voor voorbeeld*).

DEC is overtuigd van het belang van de doelstelling. Naast belangrijke fundamenteel wetenschappelijke inzichten in de keuzes die vogels maken bij het bepalen van hun migratie routes is het de verwachting dat de resultaten uit dit soort onderzoek op den duur ook een bijdrage zullen leveren aan het formuleren van beschermingsmaatregelen voor kanoeten en andere trekkende steltlopers.

De commissie is overtuigd van de kwaliteit van het onderzoek en de uitvoering hiervan. De DEC is van mening dat het project goed is opgezet, en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen de looptijd van het project. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn, dat het doel niet met minder dieren behaald kan worden, dat de gebruikte aanpak de meest verfijnde is en dat voorkomen wordt dat mens, dier en milieu, significante onbedoelde negatieve effecten zullen ondervinden als gevolg van de dierproeven. De keuze voor het gebruik van in het wild gevangen dieren, de uitvoering op het lab en in het veld zijn voldoende wetenschappelijk onderbouwd. De doelstellingen zijn direct gericht op de doelsoort.

De DEC is van mening dat het wetenschappelijke en maatschappelijke belang voldoende zwaar wegen om het schaden van de belangen van de proefdieren (het gevrijwaard blijven van een aantasting van welzijn en integriteit) te rechtvaardigen. De commissie acht het dan ook gerechtvaardigd om een relatief zeer klein gedeelte van de natuurlijke populatie gedurende langere tijd uit hun biotoop te halen, weinig belastende experimenten te laten ondergaan en vervolgens weer los te laten met het risico dat ze niet hun normale migratieroute gaan volgen. Er zijn voor alle vogels (ook degenen die eventueel een 'verkeerde' migratieroute kiezen) goede uitzichten op een verder 'normaal' leven.

## E. Advies

1. Advies aan de CCD
  - X De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.A; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus

14 juli 2016

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B*).

Er zijn geen knelpunten of dilemma's geconstateerd - zowel binnen als buiten de context van het project - die de verantwoordelijkheid en competentie van de DEC overstijgen.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee

Postbus 59

1790 AB DEN BURG



**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

AVD802002016740

**Bijlagen**

1

Datum 27 februari 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 6 februari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "The Ontogeny of Migratory Routines in Red Knots" met aanvraagnummer AVD802002016740. 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 voorwaarden zoals genoemd in de vergunning.

Met het oog op artikel 10a, lid 1, zijn er algemene voorwaarden gesteld.

U kunt met uw project "The Ontogeny of Migratory Routines in Red Knots" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 april 2017 tot en met 31 maart 2022. Deze termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat de maximale vergunningsperiode 5 jaar is.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

### **Procedure**

De CCD heeft geconstateerd dat u in het project onderzoek doet aan wilde dieren waarvoor volgens artikel 10f lid 1 van de wet een verbod geldt. Er is echter voldoende onderbouwing gegeven om het onderzoek op grond van artikel 10f lid 2 toch toe te staan.

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de [REDACTED] [REDACTED] gevoegd. Dit advies is opgesteld op 22 januari 2017. 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.



Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

**Datum:**  
27 februari 2017  
**Aanvraagnummer:**  
AVD802002016740

#### **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.

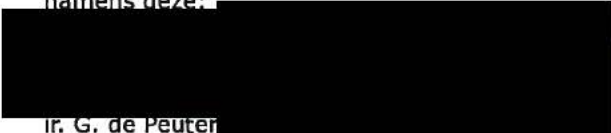
Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel 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](http://www.centralecommissiedierproeven.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:

  
ir. G. de Peuter  
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:** Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek  
der Zee

**Adres:** Postbus 59

**Postcode en plaats:** 1790 AB DEN BURG

**Deelnemersnummer:** 80200

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 april 2017 tot en met 31 maart 2022, voor het project "The Ontogeny of Migratory Routines in Red Knots" met aanvraagnummer AVD802002016740, volgens advies van [REDACTED]

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]. Voor de uitvoering van het project is [REDACTED] verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 6 februari 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per brief op 6 februari 2017;
  - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per brief op 6 juli 2017;
  - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 22 januari 2017, ontvangen op 6 februari 2017.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
<b>1: Bird capture and personality test</b>				
	Andere vogels (andere Aves) / wilde kanoeten	235	100% Matig	

**Aanvraagnummer:**  
AVD802002016740

### **Voorwaarden**

*Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet op de dierproeven zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen*

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

In artikel 10, lid 1 sub a 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 afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.



**Aanvraagnummer:**

AVD802002016740

## 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

**Aanvraagnummer:**

AVD802002016740

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.