

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:
Afdeling:

Titel dierproef: Experiment 2 Effect van groepsselectie en opgroeien met een moeder op de gedragsmatige ontwikkeling en het welzijn van legkippen

Aanmeldcode / Protocol: 2009029.a

Stadia van de proef:

10-03-2009	Aangemeld	
23-04-2009	Wijzigen	Secretaris van de DEC
24-04-2009	Gekopieerd	

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

Ja, het project is gefinancierd met behulp van een [redacted] en als zodanig beoordeeld door drie internationale externe referenten. De proefopzet is goedgekeurd door de stuurgroep ingesteld door [redacted]

1.a. Met dit onderzoek te beantwoorden concrete vraag:

Wetenschappelijke vraag m.b.t. van dieren

De proef is een vervollexperiment van het in 2007/2008 uitgevoerde experiment 'Effect van groepsselectie en opgroeien met een moeder op de gedragsmatige ontwikkeling en het welzijn van legkippen'. Experiment 2 zal uitgevoerd worden met de 3e generatie dieren uit het groepsselectie-experiment (experiment 1 is uitgevoerd met dieren van de 2e generatie). In experiment 2 zullen een aantal veelbelovende resultaten uit experiment 1 nader bestudeerd worden.

Het directe doel van de proef is om het effect te bestuderen van groepsselectie en van opgroeien met een moeder op de gedragsmatige ontwikkeling van legkippen. Hiertoe worden binnen het onderzoek de dieren gedragsmatig en (neuro-)fysiologisch gekarakteriseerd. De verwachting is dat groepsgeselecteerde kippen die opgegroeid zijn met een moeder beter bestand zullen zijn tegen stress, minder angstig en socialer zijn en minder verenpikken en kannibalisme zullen vertonen dan individueel geselecteerde dieren of dieren die opgegroeid zijn zonder moeder.

De groepsgeselecteerde dieren komen voort uit een selectie-experiment dat wordt uitgevoerd binnen het project 'Genetics of robustness in laying hens'. Het zijn kuikens van de derde generatie dieren uit dit experiment. De ouders zijn geselecteerd op lage uitval. Dit wordt gedaan door zussen van de selectiekandidaten in groepskooien te huisvesten met vier dieren en vervolgens die selectiekandidaten te selecteren met de laagste uitval in de groepskooien (daarnaast worden individuele kenmerken van de selectiekandidaat meegenomen als eiproductie en eigewicht).

De individueel geselecteerde dieren komen voort uit het zelfde experiment en worden gebruikt als controle-populatie. Binnen deze populatie wordt random geselecteerd zonder rekening te houden met het gedrag van de zussen die in groepskooien met vier kippen gehouden worden. Deze selectiemethode lijkt

dus op de traditionele, individuele selectie op eiproductie en eigewicht. De groepsgeselecteerde en individueel geselecteerde dieren komen voort uit dezelfde zuivere selectielijn van [REDACTED]

Het uiteindelijke doel van het project is om een bijdrage te leveren aan de verbetering van fokprogramma's en opfokomstandigheden van legkippen, zodat deze dieren beter aangepast zijn aan huisvestingssystemen, waarin legkippen in grote groepen worden gehouden. Voor dergelijke systemen is een rustige en sociale kip nodig, die niet sterk geneigd is om verenpikken en kannibalisme te vertonen.

1.b. Het uiteindelijk doel (Maatschappelijke en wetenschappelijke relevantie):

De maatschappij vindt het onacceptabel dat legkippen in batterijen worden gehouden. Dit heeft ertoe geleid dat de traditionele batterijkooi vanaf 2012 verboden wordt. Vanaf die datum moeten alle kippen in de EU gehouden worden in verrijkte kooien of niet-kooisystemen (voliere of grondhuisvesting). Met name in de niet-kooisystemen doen zich regelmatig grote welzijnsproblemen voor door het ontstaan van verenpikken en kannibalisme. Deze proef hoopt uiteindelijk bij te dragen aan het verminderen van verenpikken en kannibalisme en hoopt zo een bijdrage te leveren aan het verbeteren van het welzijn van legkippen.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 29-04-2009 tot 01-07-2009

3. Specificatie diergroepen:

Zijdehoenders	20	kippen	Pleegmoeders
Witte leghorns	352	kippen	Kuikens
Witte leghorns, bloedmonster	168	kippen	Kuikens, bloedmonsters,
immuunchallenge			

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

20 volwassen zijdehoenders (pleegmoeders)
520 Witte Leghorn kuikens (broedeieren uitgebroed op [REDACTED])

4.b. Motivatie waarom is gekozen voor deze diersoort:

Het betreft een wetenschappelijke vraag op gebied van het gedrag van kippen.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Binnen de proef worden 4 behandelingen onderzocht (selectiemethode*opgroeicondities):

- | | |
|-------------------------|-------------------------|
| 1. Groepsselectie | Opgroeien zonder moeder |
| 2. Individuele selectie | Opgroeien zonder moeder |
| 3. Groepsselectie | Opgroeien met moeder |
| 4. Individuele selectie | Opgroeien met moeder |

Iedere behandeling wordt 10x herhaald. Dit is het minimale aantal dat nodig is om significante verschillen in gedrag te kunnen detecteren. De statistische eenheid is groep.

Iedere groep bestaat uit 13 kuikens. Deze groepsgrootte is nodig om voldoende sociale interacties waar te kunnen nemen.

4.d. Herkomst:

Zijdehoenders F. dier is in het reg.jr voor 1e keer hergebruikt

Witte leghorns A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Witte leghorns, bloedmonster A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

De 20 zijdehoenders zijn deels aangekocht in 2006/2007 van 3 particuliere eigenaars en deels gefokt uit deze dieren (2007). De zijdehoenders zijn reeds gehuisvest op [REDACTED]. De zijdehoenders zijn individueel gemerkt, zodat eventuele effecten van het wel/geen ervaring hebben met kuikens kunnen worden meegenomen.

De 520 vrouwelijke witte leghorns worden verkregen uit 1440 broedeieren geleverd door [REDACTED] en uitgebroed in de broedmachine op [REDACTED]. Alle eieren komen uit in de broedmachine (deze wordt geopend na 22 dagen).

Er wordt rekening gehouden met een uitkomstpercentage van 72%, gebaseerd op ervaringen met deze lijnen bij [REDACTED]. Er worden 520 vrouwelijke kuikens gebruikt voor de proef, 40 groepen van 13 dieren. Alle mannelijke kuikens en eventueel overblijvende vrouwelijke kuikens worden afgemaakt.

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

De kippen en kuikens zullen worden gehuisvest in stal 8b (8 groepen) en in stal 13 op proefaccommodatie [REDACTED] in grondhokken. De vloer is voor 2/3 bedekt met houtkrullen en voor 1/3 met zand. De hokken zijn verder uitgerust met een open kuikennest met daarboven de kunstmoeder (donkere warmtebron), een lage en een hoge zitstok (en vanaf 17 weken van een legnest).

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De dieren worden verzorgd door de diervverzorgers van Proefaccommodatie [REDACTED]. Tweemaal daags worden de dieren gecontroleerd en worden de eieren geraapt. Eventuele gewonde dieren worden onmiddellijk behandeld met wondspray. Indien dieren ernstig gewond zijn worden deze onmiddellijk op humane wijze gedood met behulp van een injectie met T61. Dit zal altijd gebeuren in samenspraak tussen onderzoeker en proefdiervverzorging.

Wanneer de kuikens in de grondhokken worden geplaatst, zal de omgevingstemperatuur op 30 graden celsius worden gehouden, om te voorkomen dat de kuikens verkleumen als zij onder de lamp/moeder vandaan gaan. Een hogere omgevingstemperatuur zou nadelig kunnen zijn voor de pleegmoeder. De temperatuur zal worden afgebouwd naar 20 graden celsius over een periode van 5 weken (2 graden per week). De temperatuur wordt gemonitord door min/max thermometers op dierniveau die tweemaal daags gecontroleerd worden. Daarnaast wordt ook het gedrag van de kuikens geobserveerd.

Bij eventuele ziektes/besmettingen zullen, in overleg, alle proefgroepen worden behandeld. Ernstig zieke dieren zullen worden verwijderd uit de proef en op humane wijze gedood met behulp van een injectie met T61.

De kuikens zullen worden geënt volgens het standaard entschema:

dag 0 Marek Rispens + HVT intramusc
dag 0 IB MA 5 spray
dag 10 NCD 1e spray/atomist
dag 21 Gumboro drinkwater
dag 28 NCD 2e atomist
dag 42 PDww wingweb
dag 70 IB primer spray
dag 84 ILT spray/drinkwater/oogdruppel
dag 91 AE drinkwater
dag 98 NCD 3e atomist
dag 98 ND injectie
dag 112 IB H52 spray

5.c. Voeding:

De dieren worden onbeperkt gevoerd met opfokvoer en legmeel voor legkippen. Water is onbeperkt beschikbaar via een rondrinker. Tweemaal daags wordt er graan gestrooid in het strooisel

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

In deze proef zullen het effect van genetische selectiemethode en van opgroeiomstandigheden op de gedragsmatige ontwikkeling van legkippen onderzocht worden. De hypothese is dat kuikens die geselecteerd zijn door middel van groepsselectie en die opgroeien met een moederkloek een evenwichtigere gedragsmatige ontwikkeling zullen hebben en een minder sterke neiging zullen hebben om verenpikken en kannibalisme te ontwikkelen dan individueel geselecteerde dieren, of dieren die zonder moederkloek zijn opgevoerd.

Hiertoe worden de volgende vier proefgroepen vergeleken (10 herhalingen per proefgroep, groepen van 13 dieren in grondhuisvesting):

Groepsselectie	Opgroeien zonder moeder
Individuele selectie	Opgroeien zonder moeder
Groepsselectie	Opgroeien met moeder
Individuele selectie	Opgroeien met moeder

Voor deze proef worden 1440 broedeieren uitgedroefd in de broedmachine op [REDACTED] 720 eieren van kippen die geselecteerd zijn middels groepsselectie en 720 eieren van kippen die geselecteerd zijn middels individuele selectie. De broedeieren worden verkregen via [REDACTED].

Tegelijk met het inleggen van de broedeieren in de broedmachine worden de zijdehoenders die broeds zijn op niet-bevruchte eieren te broeden gezet in het nest van de hierna beschreven grondhokken. Tijdens het broeden hebben de dieren onbeperkt toegang tot voer en water en zal een lichtschema gehanteerd worden van 16 uur licht en 8 uur donker. Vooraf wordt bijgehouden welke zijdehoenders broeds zijn.

Direct na uitkomst worden alle kuikens gesext. De mannelijke kuikens worden afgemaakt, de vrouwelijke kuikens worden geënt en gemerkt met behulp van een Swiftack (Gekleurd label met nummer; wordt ingebracht door het nekvel). 260 kuikens worden daarna in 20 groepen van 13 kuikens onder een broedse pleegmoeder (zijdehoender) geplaatst (130 kuikens per selectiemethode). 260 andere kuikens worden in 20 groepen van 13 kuikens onder een kunstmoeder (donkere warmtebron) geplaatst (130 kuikens per selectiemethode). De 4 proefgroepen worden volgens een vaststaand schema verdeeld over de hokken. Alle dieren worden gehuisvest in groepjes van 13 in een grondhok van 1,9 x 1,2 m met houtkrullen op de grond (2/3 van het oppervlak) en zand op de grond (1/3 van het oppervlak), en een zitstok van 1 m (35 cm boven grond), een nestruimte en onbeperkt voer en water. Om verkleumen van de kuikens te voorkomen worden alle hokken voorzien van een kunstmoeder (donkere warmtebron). De moederkloeken en de kunstmoeders worden na zes weken verwijderd. De moederkloeken worden dan gezamenlijk in 1 groep gehuisvest.

Gedrag thuishok 0-4 weken

Tijdens de vroege jeugd (0-4 weken) wordt de gedragsmatige ontwikkeling van de kuikens in detail gevolgd met behulp van gedragsobservaties in de thuishokken, met speciale aandacht voor de ontwikkeling van voedselzoekgedrag en sociaal gedrag.

Open veldtest 5-6 weken

De open-field test zal worden uitgevoerd in een nabijgelegen testruimte. Het dier wordt hier naartoe vervoerd in een doos. Ter plaatse wordt het dier in het midden van het verduisterde open-field geplaatst. Vervolgens wordt het licht aangeschakeld en wordt het gedrag van het dier gedurende 5 minuten

waargenomen. De latentietijd tot vocaliseren, opstaan en rondlopen wordt geregistreerd, alsmede overige gedragingen. De test vindt plaats tussen 8:00 en 17:00. Tijdstip van de dag zal worden opgenomen in het statistisch model.

Waarnemingen thuishok 7-52 weken

In het thuishokm wordt van 7-52 weken 1 x per maand de ontwikkeling van verenpikken en kannibalisme vastgelegd door middel van gedragsobservaties (behaviour sampling). Daarnaast wordt de gedragsmatige ontwikkeling in detail gevolgd: ontwikkeling pikgedrag, sociaal gedrag, zitstokgebruik. De gedragsobservaties zullen worden uitgevoerd door directe waarnemingen in het thuishok. Iedere maand wordt iedere groep gedurende 25 minuten geobserveerd. De volgorde waarin de groepen geobserveerd zullen worden zal worden afgewisseld volgens schema. Om alle groepen te observeren zijn drie dagen nodig. Iedere week zal van maandag t/m woensdag geobserveerd worden. Het ethogram is gericht op de ontwikkeling van pikgedrag, sociaal gedrag en zitstokgebruik. De dieren zullen op individueel niveau geobserveerd worden. De waarnemingen vinden plaats tussen 8:00 en 17:00. Tijdstip van de dag zal worden opgenomen in het statistisch model. Ook zal de veerschade 1x per maand worden vastgesteld volgens de methode ontwikkeld door Tauson et al. (2005), aansluitend op de gedragsobservaties. Hierbij zal ook gekeken worden naar verwondingen aan de tenen door teenpikken.

Tijdens de gehele proef zal ook de eierproductie per groep worden bijgehouden. Ook zullen de dieren op 7, 17 en 52 weken worden gewogen.

Manual restraint test 55 weken

Op een leeftijd van 30 weken wordt bij een deel van de dieren de manual restraint test uitgevoerd. Van zes groepen per behandeling (24 groepen in totaal) worden ad random zeven dieren geselecteerd en individueel getest. De 24 groepen worden volgens schema afgewisseld, zodanig dat er nooit twee dieren uit dezelfde groep of twee dieren uit naburige groepen achter elkaar worden getest. Dus in totaal worden $n=168$ dieren blootgesteld aan de manual restraint test. De manual restraint wordt door twee personen uitgevoerd. Hiervoor wordt in de analyse gecorrigeerd. Voor de manual restraint test wordt een dier gevangen en vervolgens gedurende vijf minuten vastgehouden. Dit wordt gedaan door met de linkerhand de poten van de kip losjes vast te houden en de rechterhand met lichte druk op de borst van het dier te leggen. Als het dier zich verzet, worden de poten met de linkerhand gefixeerd om de kip weer in positie te brengen. Gedurende deze vijf minuten wordt de latentietijd tot vocaliseren en verzetten gemeten en ook het aantal vocalisaties en verzetten. Vervolgens wordt de kip gedurende 10 minuten apart gezet in een plastic krat. Na 15 minuten wordt er een bloedmonster genomen van 6 ml. Een deel van het bloedmonster (plasma) wordt gebruikt voor de bepaling van het corticosteroongehalte na manual restraint, een deel van het bloedmonster voor bepaling van het serotoninegehalte (volbloed) en een deel wordt gebruikt voor het verkrijgen van plaatjes-rijk plasma; hieruit wordt de serotonine-uptake in bloedplaatjes bepaald.

Immuunchallenge 57 weken

Dezelfde dieren als gebruikt in de Manual Restraint test op 55 weken worden op 57 weken onderworpen aan een immuunchallenge. De verwachting is dat effecten van de manual restraint test (milde stressor) op het immuunsysteem 1 week na de test verdwenen zijn. Op 57 weken worden deze dieren intratracheaal geïmmuniseerd met 1 mg HuSA in 0,5 ml PBS buffer. Alle dieren worden op 1 dag geïmmuniseerd. Een dag voor en een dag na de HuSA immunisatie worden alle dieren gewogen. Op dag 0, 7, 14 en 21 zal 1 ml bloed worden afgenomen uit de vleugelvene om de immuunreactie in de vorm van antistoffen tegen HuSA te meten. In de monsters van dag 0 wordt ook de algemene weerstand (Nabs) gemeten. Voor, tijdens en na de immuunchallenge worden extra gedragsobservaties uitgevoerd om 1) pikkers en slachtoffers te identificeren en 2) effecten van de immunisatie op verenpikken en kannibalisme te onderzoeken.

Aan het einde van de proef (na 70 weken) zullen de uitgelegde hennen op humane wijze worden afgemaakt met behulp van T-61 en vervolgens worden gebruikt voor metingen op gebied van fluctuerende asymmetrie (FA). Fluctuerende asymmetrie is een maat voor ontwikkelingsinstabiliteit, die gebruikt kan

worden als indicator voor dierenwelzijn: dieren die tijdens hun ontwikkeling veel stress ondervinden en hiermee niet goed kunnen omgaan ontwikkelen zich doorgaans minder symmetrisch dan hun soortgenoten.

6.b. Mate van ongerief:

Zijdehoenders A. Gering
Witte leghorns A. Gering
Witte leghorns, bloedmonster C. Matig

6.c. Waaruit bestaat het ongerief en hoe bent u tot uw inschatting van de mate van ongerief gekomen?

- Sexen van de kuikens (witte leghorns)
- Merken van de kuikens met behulp van een Swiftack (witte leghorns)
- De zijdehoenders en witte leghorns zullen een aantal malen gehanteerd moeten worden. Dit zal zorgvuldig gebeuren door een ervaren persoon (zijdehoenders en witte leghorns)
- Isolatie van groepsgenoten in open-field test gedurende 5 minuten (witte leghorns)
- Risico op verenpikken, kannibalisme en teenpikken (witte leghorns)
- Stress door hanteren en 5 min manual restraint (witte leghorns bloedmonster)
- 5 x Bloedmonster nemen uit de vleugelveen (witte leghorns bloedmonster)
- immunisatie met HuSA (witte leghorns bloedmonster)
- Afmaken op 52 weken leeftijd (witte leghorns)

7. Welke maatregelen heeft u getroffen om het ongerief tot een minimum te beperken?

Anesthesie:

Zijdehoenders A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Witte leghorns A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Witte leghorns, bloedmonster A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

Zijdehoenders A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Witte leghorns A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Witte leghorns, bloedmonster A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

- Sexen van de kuikens wordt zorgvuldig uitgevoerd door een professionele kuikensexer (extern ingehuurd)
- Het merken van de kuikens met behulp van een Swiftack wordt zorgvuldig uitgevoerd volgens de instructies van de leverancier. Het merk wordt aangebracht door het nekvel
- Zorgvuldig hanteren dieren door ervaren persoon
- Voor de open-field test worden de kuikens gedurende 5 minuten individueel getest in een geïsoleerde testruimte. De testtijd is zo kort mogelijk gehouden om het ongerief zoveel mogelijk te beperken.
- Er bestaat een risico dat de dieren verenpikken en kannibalisme ontwikkelen. De dieren zullen dagelijks

tweemaal gecontroleerd worden. Eventuele gewonde dieren worden onmiddellijk verzorgd met wondspray. Indien de dieren ernstig gewond zijn worden deze dieren onmiddellijk verwijderd en op humane wijze gedood met behulp van T-61. In experiment 1 zijn er vooral problemen geweest met teenpikken. Binnen deze proef is besloten om probleemgroepen bij een ernstige uitbraak van teenpikken in zijn geheel te euthanaseren, omdat de ervaring leerde dat het gedrag binnen deze groepen niet te stoppen was.

- De dosis HuSA (1mg) leidt niet tot een langdurige aantasting van de gezondheid of het welzijn. Op korte termijn zal er wel sprake zijn van een cachetine reactie. Overig ongerief bestaat uit het 5 x afnemen van bloed en het wegen en vangen van de dieren. Bloedmonsters worden genomen door twee ervaren biotechnici en de dieren worden zorgvuldig gehanteerd door ervaren personen. Er is een kans op een toename in verenpikken en kannibalisme t.g.v. de intratracheale immunisatie met HuSA. Indien dit het geval is zal het protocol met betrekking tot gewonde dieren strikt worden gevolgd en zal er contact worden opgenomen met de proefdierdeskundige.

- De kippen zullen op humane wijze worden gedood door een daartoe bevoegd persoon met behulp van T-61.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

Zijdehoenders Het dier is na de proef in leven gelaten.

Witte leghorns Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.

Witte leghorns, bloedmonster Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.

Toelichting:

De zijdehoenders worden na de proef aangehouden voor een vervolgonderzoek. Ze worden gehuisvest in 3 groepen van 7 dieren in een ruim grondhok met houtkrullen op de grond, legnesten, zitstokken en onbeperkt voer en water.

De witte leghorns worden op een leeftijd van 52 weken gedood voor de FA-metingen.

9. Welke alternatieven (vervanging, verfijning, vermindering) zijn voor de beschreven experimenten overwogen en waarom zijn deze verworpen?

Er zijn ons geen alternatieven bekend voor dit gedragsexperiment. Wel is ernaar gestreefd om het aantal proefdieren zo laag mogelijk te houden.

10. Namen van direct betrokkenen bij de dierproef (artikel 9- en 12-functionarissen):

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2009029.a (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					35	1	1	01					
Zijdehoenders	1	51	6	20					01	1	1	1	3
Witte leghorns	1	51	1	352					01	1	1	1	1
Witte leghorns, bloedmonster	1	51	1	168					01	1	1	3	1

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:
Afdeling:

Titel dierproef: Experiment 2 Effect van groepsselectie en opgroeien met een moeder op de gedragsmatige ontwikkeling en het welzijn van legkippen

Aanmeldcode / Protocol: 2009029.b

Stadia van de proef:

24-04-2009	Aangemeld	
28-04-2009	Wijzigen	Secretaris van de DEC
28-04-2009	Gekopieerd	

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

Ja, het project is gefinancierd met behulp van een [redacted] en als zodanig beoordeeld door drie internationale externe referenten. De proefopzet is goedgekeurd door de stuurgroep ingesteld door [redacted].

1.a. Met dit onderzoek te beantwoorden concrete vraag:

Wetenschappelijke vraag m.b.t. van dieren

De proef is een vervollexperiment van het in 2007/2008 uitgevoerde experiment 'Effect van groepsselectie en opgroeien met een moeder op de gedragsmatige ontwikkeling en het welzijn van legkippen'. Experiment 2 zal uitgevoerd worden met de 3e generatie dieren uit het groepsselectie-experiment (experiment 1 is uitgevoerd met dieren van de 2e generatie). In experiment 2 zullen een aantal veelbelovende resultaten uit experiment 1 nader bestudeerd worden.

Het directe doel van de proef is om het effect te bestuderen van groepsselectie en van opgroeien met een moeder op de gedragsmatige ontwikkeling van legkippen. Hiertoe worden binnen het onderzoek de dieren gedragsmatig en (neuro-)fysiologisch gekarakteriseerd. De verwachting is dat groepsgeselecteerde kippen die opgegroeid zijn met een moeder beter bestand zullen zijn tegen stress, minder angstig en sociaal zijn en minder verenpikken en kannibalisme zullen vertonen dan individueel geselecteerde dieren of dieren die opgegroeid zijn zonder moeder.

De groepsgeselecteerde dieren komen voort uit een selectie-experiment dat wordt uitgevoerd binnen het project 'Genetics of robustness in laying hens'. Het zijn kuikens van de derde generatie dieren uit dit experiment. De ouders zijn geselecteerd op lage uitval. Dit wordt gedaan door zussen van de selectiekandidaten in groepskooien te huisvesten met vier dieren en vervolgens die selectiekandidaten te selecteren met de laagste uitval in de groepskooien (daarnaast worden individuele kenmerken van de selectiekandidaat meegenomen als eiproductie en eigewicht).

De individueel geselecteerde dieren komen voort uit het zelfde experiment en worden gebruikt als controle-populatie. Binnen deze populatie wordt random geselecteerd zonder rekening te houden met het gedrag van de zussen die in groepskooien met vier kippen gehouden worden. Deze selectiemethode lijkt

dus op de traditionele, individuele selectie op eiproductie en eigewicht. De groepsgeselecteerde en individueel geselecteerde dieren komen voort uit dezelfde zuivere selectielijn van [REDACTED].

Het uiteindelijke doel van het project is om een bijdrage te leveren aan de verbetering van fokprogramma's en opfokomstandigheden van legkippen, zodat deze dieren beter aangepast zijn aan huisvestingssystemen, waarin legkippen in grote groepen worden gehouden. Voor dergelijke systemen is een rustige en sociale kip nodig, die niet sterk geneigd is om verenpikken en kannibalisme te vertonen.

1.b. Het uiteindelijk doel (Maatschappelijke en wetenschappelijke relevantie):

De maatschappij vindt het onacceptabel dat legkippen in batterijen worden gehouden. Dit heeft ertoe geleid dat de traditionele batterijkooi vanaf 2012 verboden wordt. Vanaf die datum moeten alle kippen in de EU gehouden worden in verrijkte kooien of niet-kooisystemen (voliere of grondhuisvesting). Met name in de niet-kooisystemen doen zich regelmatig grote welzijnsproblemen voor door het ontstaan van verenpikken en kannibalisme. Deze proef hoopt uiteindelijk bij te dragen aan het verminderen van verenpikken en kannibalisme en hoopt zo een bijdrage te leveren aan het verbeteren van het welzijn van legkippen.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 29-04-2009 tot 01-07-2009

3. Specificatie diergroepen:

Zijdehoenders	20	kippen	Pleegmoeders
Witte leghorns	352	kippen	Kuikens
Witte leghorns, bloedmonster	168	kippen	Kuikens, bloedmonsters,
immuunchallenge			

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

20 volwassen zijdehoenders (pleegmoeders)
520 Witte Leghorn kuikens (broedeieren uitgebroed op [REDACTED])

4.b. Motivatie waarom is gekozen voor deze diersoort:

Het betreft een wetenschappelijke vraag op gebied van het gedrag van kippen.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Binnen de proef worden 4 behandelingen onderzocht (selectiemethode*opgroeicondities):

1. Groepsselectie Opgroeien zonder moeder
2. Individuele selectie Opgroeien zonder moeder
3. Groepsselectie Opgroeien met moeder
4. Individuele selectie Opgroeien met moeder

Iedere behandeling wordt 10x herhaald. Dit is het minimale aantal dat nodig is om significante verschillen in gedrag te kunnen detecteren. De statistische eenheid is groep.

Iedere groep bestaat uit 13 kuikens. Deze groepsgrootte is nodig om voldoende sociale interacties waar te kunnen nemen.

4.d. Herkomst:

Zijdehoenders F. dier is in het reg.jr voor 1e keer hergebruikt

Witte leghorns A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Witte leghorns, bloedmonster A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

De 20 zijdehoenders zijn deels aangekocht in 2006/2007 van 3 particuliere eigenaars en deels gefokt uit deze dieren (2007). De zijdehoenders zijn reeds gehuisvest op de [REDACTED]. De zijdehoenders zijn individueel gemerkt, zodat eventuele effecten van het wel/geen ervaring hebben met kuikens kunnen worden meegenomen.

De 520 vrouwelijke witte leghorns worden verkregen uit 1440 broedeieren geleverd door [REDACTED] en uitgebroed in de broedmachine op [REDACTED]. Alle eieren komen uit in de broedmachine (deze wordt geopend na 22 dagen).

Er wordt rekening gehouden met een uitkomstpercentage van 72%, gebaseerd op ervaringen met deze lijnen bij [REDACTED]. Er worden 520 vrouwelijke kuikens gebruikt voor de proef, 40 groepen van 13 dieren. Alle mannelijke kuikens en eventueel overblijvende vrouwelijke kuikens worden afgemaakt.

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

De kippen en kuikens zullen worden gehuisvest in stal 8b (8 groepen) en in stal 13 op proefaccommodatie [REDACTED] in grondhokken. De vloer is voor 2/3 bedekt met houtkrullen en voor 1/3 met zand. De hokken zijn verder uitgerust met een open kuikennest met daarboven de kunstmoeder (donkere warmtebron), een lage en een hoge zitstok (en vanaf 17 weken van een legnest).

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De dieren worden verzorgd door de diervverzorgers van Proefaccommodatie [REDACTED]. Tweemaal daags worden de dieren gecontroleerd en worden de eieren geraapt. Eventuele gewonde dieren worden onmiddellijk behandeld met wondspray. Indien dieren ernstig gewond zijn worden deze onmiddellijk op humane wijze gedood met behulp van een injectie met T61. Dit zal altijd gebeuren in samenspraak tussen onderzoeker en proefdiervverzorging.

Wanneer de kuikens in de grondhokken worden geplaatst, zal de omgevingstemperatuur op 30 graden celsius worden gehouden, om te voorkomen dat de kuikens verkleumen als zij onder de lamp/moeder vandaan gaan. Een hogere omgevingstemperatuur zou nadelig kunnen zijn voor de pleegmoeder. De temperatuur zal worden afgebouwd naar 20 graden celsius over een periode van 5 weken (2 graden per week). De temperatuur wordt gemonitord door min/max thermometers op dierniveau die tweemaal daags gecontroleerd worden. Daarnaast wordt ook het gedrag van de kuikens geobserveerd.

Bij eventuele ziektes/besmettingen zullen, in overleg, alle proefgroepen worden behandeld. Ernstig zieke dieren zullen worden verwijderd uit de proef en op humane wijze gedood met behulp van een injectie met T61.

De kuikens zullen worden geënt volgens het standaard entschema:

dag 0 Marek Rispens + HVT intramusc
dag 0 IB MA 5 spray
dag 10 NCD 1e spray/atomist
dag 21 Gumboro drinkwater
dag 28 NCD 2e atomist
dag 42 PDww wingweb
dag 70 IB primer spray
dag 84 ILT spray/drinkwater/oogdruppel
dag 91 AE drinkwater
dag 98 NCD 3e atomist
dag 98 ND injectie
dag 112 IB H52 spray

5.c. Voeding:

De dieren worden onbeperkt gevoerd met opfokvoer en legmeel voor legkippen. Water is onbeperkt beschikbaar via een rondrinker. Tweemaal daags wordt er graan gestrooid in het strooisel

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

In deze proef zullen het effect van genetische selectiemethode en van opgroeiomstandigheden op de gedragsmatige ontwikkeling van legkippen onderzocht worden. De hypothese is dat kuikens die geselecteerd zijn door middel van groepselectie en die opgroeien met een moederkloek een evenwichtiger gedragsmatige ontwikkeling zullen hebben en een minder sterke neiging zullen hebben om verenpikken en kannibalisme te ontwikkelen dan individueel geselecteerde dieren, of dieren die zonder moederkloek zijn opgevoerd.

Hiertoe worden de volgende vier proefgroepen vergeleken (10 herhalingen per proefgroep, groepen van 13 dieren in grondhuisvesting):

Groepselectie	Opgroeien zonder moeder
Individuele selectie	Opgroeien zonder moeder
Groepselectie	Opgroeien met moeder
Individuele selectie	Opgroeien met moeder

Voor deze proef worden 1440 broedeieren uitbroed in de broedmachine op [REDACTED]; 720 eieren van kippen die geselecteerd zijn middels groepselectie en 720 eieren van kippen die geselecteerd zijn middels individuele selectie. De broedeieren worden verkregen via [REDACTED]

Tegelijk met het inleggen van de broedeieren in de broedmachine worden de zijdehoenders die broeds zijn op niet-bevruchte eieren te broeden gezet in het nest van de hierna beschreven grondhokken. Tijdens het broeden hebben de dieren onbeperkt toegang tot voer en water en zal een lichtschema gehanteerd worden van 16 uur licht en 8 uur donker. Vooraf wordt bijgehouden welke zijdehoenders broeds zijn.

Direct na uitkomst worden alle kuikens gesext. De mannelijke kuikens worden afgemaakt, de vrouwelijke kuikens worden geënt en gemerkt met behulp van een Swiftack (Gekleurd label met nummer; wordt ingebracht door het nekvel). 260 kuikens worden daarna in 20 groepen van 13 kuikens onder een broedse pleegmoeder (zijdehoender) geplaatst (130 kuikens per selectiemethode). 260 andere kuikens worden in 20 groepen van 13 kuikens onder een kunstmoeder (donkere warmtebron) geplaatst (130 kuikens per selectiemethode). De 4 proefgroepen worden volgens een vaststaand schema verdeeld over de hokken. Alle dieren worden gehuisvest in groepjes van 13 in een grondhok van 1,9 x 1,2 m met houtkrullen op de grond (2/3 van het oppervlak) en zand op de grond (1/3 van het oppervlak), en een zitstok van 1 m (35 cm boven grond), een nestruimte en onbeperkt voer en water. Om verkleumen van de kuikens te voorkomen worden alle hokken voorzien van een kunstmoeder (donkere warmtebron). De moederkloeken en de kunstmoeders worden na zes weken verwijderd. De moederkloeken worden dan gezamenlijk in 1 groep gehuisvest.

Gedrag thuishok 0-4 weken

Tijdens de vroege jeugd (0-4 weken) wordt de gedragsmatige ontwikkeling van de kuikens in detail gevolgd met behulp van gedragsobservaties in de thuishokken, met speciale aandacht voor de ontwikkeling van voedselzoekgedrag en sociaal gedrag.

Open veldtest 5-6 weken

De open-field test zal worden uitgevoerd in een nabijgelegen testruimte. Het dier wordt hier naartoe vervoerd in een doos. Ter plaatse wordt het dier in het midden van het verduisterde open-field geplaatst. Vervolgens wordt het licht aangeschakeld en wordt het gedrag van het dier gedurende 5 minuten

waargenomen. De latentietijd tot vocaliseren, opstaan en rondlopen wordt geregistreerd, alsmede overige gedragingen. De test vindt plaats tussen 8:00 en 17:00. Tijdstip van de dag zal worden opgenomen in het statistisch model.

Waarnemingen thuishok 7-52 weken

In het thuishokm wordt van 7-52 weken 1 x per maand de ontwikkeling van verenpikken en kannibalisme vastgelegd door middel van gedragsobservaties (behaviour sampling). Daarnaast wordt de gedragsmatige ontwikkeling in detail gevolgd: ontwikkeling pikgedrag, sociaal gedrag, zitstokgebruik. De gedragsobservaties zullen worden uitgevoerd door directe waarnemingen in het thuishok. Iedere maand wordt iedere groep gedurende 25 minuten geobserveerd. De volgorde waarin de groepen geobserveerd zullen worden zal worden afgewisseld volgens schema. Om alle groepen te observeren zijn drie dagen nodig. Iedere week zal van maandag t/m woensdag geobserveerd worden. Het ethogram is gericht op de ontwikkeling van pikgedrag, sociaal gedrag en zitstokgebruik. De dieren zullen op individueel niveau geobserveerd worden. De waarnemingen vinden plaats tussen 8:00 en 17:00. Tijdstip van de dag zal worden opgenomen in het statistisch model. Ook zal de veerschade 1x per maand worden vastgesteld volgens de methode ontwikkeld door Tauson et al. (2005), aansluitend op de gedragsobservaties. Hierbij zal ook gekeken worden naar verwondingen aan de tenen door teenpikken.

Tijdens de gehele proef zal ook de eierproductie per groep worden bijgehouden. Ook zullen de dieren op 7, 17 en 52 weken worden gewogen.

Manual restraint test 55 weken

Op een leeftijd van 55 weken wordt bij een deel van de dieren de manual restraint test uitgevoerd. Van zes groepen per behandeling (24 groepen in totaal) worden ad random zeven dieren geselecteerd en individueel getest. De 24 groepen worden volgens schema afgewisseld, zodanig dat er nooit twee dieren uit dezelfde groep of twee dieren uit naburige groepen achter elkaar worden getest. Dus in totaal worden $n=168$ dieren blootgesteld aan de manual restraint test. De manual restraint wordt door twee personen uitgevoerd. Hiervoor wordt in de analyse gecorrigeerd. Voor de manual restraint test wordt een dier gevangen en vervolgens gedurende vijf minuten vastgehouden. Dit wordt gedaan door met de linkerhand de poten van de kip losjes vast te houden en de rechterhand met lichte druk op de borst van het dier te leggen. Als het dier zich verzet, worden de poten met de linkerhand gefixeerd om de kip weer in positie te brengen. Gedurende deze vijf minuten wordt de latentietijd tot vocaliseren en verzetten gemeten en ook het aantal vocalisaties en verzetten. Vervolgens wordt de kip gedurende 10 minuten apart gezet in een plastic krat. Na 15 minuten wordt er een bloedmonster genomen van 6 ml. Een deel van het bloedmonster (plasma) wordt gebruikt voor de bepaling van het corticosteroongehalte na manual restraint, een deel van het bloedmonster voor bepaling van het serotoninegehalte (volbloed) en een deel wordt gebruikt voor het verkrijgen van plaatjes-rijk plasma; hieruit wordt de serotonine-uptake in bloedplaatjes bepaald.

Immuunchallenge 57 weken

Dezelfde dieren als gebruikt in de Manual Restraint test op 55 weken worden op 57 weken onderworpen aan een immuunchallenge. De verwachting is dat effecten van de manual restraint test (milde stressor) op het immuunsysteem 1 week na de test verdwenen zijn. Op 57 weken worden deze dieren intratracheaal geïmmuniseerd met 1 mg HuSA in 0,5 ml PBS buffer. Alle dieren worden op 1 dag geïmmuniseerd. Een dag voor en een dag na de HuSA immunisatie worden alle dieren gewogen. Op dag 0, 7, 14 en 21 zal 1 ml bloed worden afgenomen uit de vleugelvene om de immuunreactie in de vorm van antistoffen tegen HuSA te meten. In de monsters van dag 0 wordt ook de algemene weerstand (Nabs) gemeten. Voor, tijdens en na de immuunchallenge worden extra gedragsobservaties uitgevoerd om 1) pikkers en slachtoffers te identificeren en 2) effecten van de immunisatie op verenpikken en kannibalisme te onderzoeken. Eerder onderzoek (Parmentier et al., 2009) heeft er op gewezen dat een immuunchallenge zou kunnen leiden tot een toename in verenpikgedrag. Dat wordt onderzocht in de huidige proef. De dieren worden daarbij als hun eigen controle gebruikt (door te meten voor, tijdens en na immunisatie). Daarnaast zijn ook lijnverschillen in immuunchallenge tussen de lage uitvallijn en de controlelijn indicatief voor de relatie tussen verenpikken / kannibalisme en immuunrespons.

Aan het einde van de proef (na 60 weken) zullen de uitgelegde hennen op humane wijze worden afgemaakt met behulp van T-61 en vervolgens worden gebruikt voor metingen op gebied van fluctuerende asymmetrie (FA). Fluctuerende asymmetrie is een maat voor ontwikkelingsinstabiliteit, die gebruikt kan worden als indicator voor dierenwelzijn: dieren die tijdens hun ontwikkeling veel stress ondervinden en hiermee niet goed kunnen omgaan ontwikkelen zich doorgaans minder symmetrisch dan hun soortgenoten.

6.b. Mate van ongerief:

- Zijdehoenders A. Gering
- Witte leghorns A. Gering
- Witte leghorns, bloedmonster C. Matig

6.c. Waaruit bestaat het ongerief en hoe bent u tot uw inschatting van de mate van ongerief gekomen?

- Sexen van de kuikens (witte leghorns)
- Merken van de kuikens met behulp van een Swiftack (witte leghorns)
- De zijdehoenders en witte leghorns zullen een aantal malen gehanteerd moeten worden. Dit zal zorgvuldig gebeuren door een ervaren persoon (zijdehoenders en witte leghorns)
- Isolatie van groepsgenoten in open-field test gedurende 5 minuten (witte leghorns)
- Risico op verenpikken, kannibalisme en teenpikken (witte leghorns)
- Stress door hanteren en 5 min manual restraint (witte leghorns bloedmonster)
- 5 x Bloedmonster nemen uit de vleugelvele (witte leghorns bloedmonster)
- immunisatie met HuSA (witte leghorns bloedmonster)
- Afmaken op 60 weken leeftijd (witte leghorns)

7. Welke maatregelen heeft u getroffen om het ongerief tot een minimum te beperken?

Anesthesie:

- Zijdehoenders A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- Witte leghorns A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- Witte leghorns, bloedmonster A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

- Zijdehoenders A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- Witte leghorns A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- Witte leghorns, bloedmonster A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

- Sexen van de kuikens wordt zorgvuldig uitgevoerd door een professionele kuikensexer (extern ingehuurd)
- Het merken van de kuikens met behulp van een Swiftack wordt zorgvuldig uitgevoerd volgens de instructies van de leverancier. Het merk wordt aangebracht door het nekvel
- Zorgvuldig hanteren dieren door ervaren persoon

- Voor de open-field test worden de kuikens gedurende 5 minuten individueel getest in een geïsoleerde testruimte. De testtijd is zo kort mogelijk gehouden om het ongerief zoveel mogelijk te beperken.

- Er bestaat een risico dat de dieren verenpikken en kannibalisme ontwikkelen. De dieren zullen dagelijks tweemaal gecontroleerd worden. Eventuele gewonde dieren worden onmiddellijk verzorgd met wondspray. Indien de dieren ernstig gewond zijn worden deze dieren onmiddellijk verwijderd en op humane wijze gedood met behulp van T-61. In experiment 1 zijn er vooral problemen geweest met teenpikken. Binnen deze proef is besloten om probleemgroepen bij een ernstige uitbraak van teenpikken in zijn geheel te euthanaseren, omdat de ervaring leerde dat het gedrag binnen deze groepen niet te stoppen was.

- De dosis HuSA (1mg) leidt niet tot een langdurige aantasting van de gezondheid of het welzijn. Op korte termijn zal er wel sprake zijn van een cachetine reactie. Overig ongerief bestaat uit het 5 x afnemen van bloed en het wegen en vangen van de dieren. Bloedmonsters worden genomen door twee ervaren biotechnici en de dieren worden zorgvuldig gehanteerd door ervaren personen. Er is een kans op een toename in verenpikken en kannibalisme t.g.v. de intratracheale immunisatie met HuSA. Indien dit het geval is zal het protocol met betrekking tot gewonde dieren strikt worden gevolgd en zal er contact worden opgenomen met de proefdierdeskundige.

- De kippen zullen op humane wijze worden gedood door een daartoe bevoegd persoon met behulp van T-61.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

Zijdehoenders Het dier is gedood na het einde van de proef.

Witte leghorns Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.

Witte leghorns, bloedmonster Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.

Toelichting:

De zijdehoenders worden na de proef aangehouden voor een vervollexperiment. Ze worden gehuisvest in 3 groepen van 7 dieren in een ruim grondhok met houtkrullen op de grond, legnesten, zitstokken en onbeperkt voer en water.

De witte leghorns worden op een leeftijd van 60 weken gedood voor de FA-metingen.

9. Welke alternatieven (vervanging, verfijning, vermindering) zijn voor de beschreven experimenten overwogen en waarom zijn deze verworpen?

Er zijn ons geen alternatieven bekend voor dit gedragsexperiment. Wel is ernaar gestreefd om het aantal proefdieren zo laag mogelijk te houden.

10. Namen van direct betrokkenen bij de dierproef (artikel 9- en 12-functionarissen):

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]



Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2009029.b (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					35	1	1	01					
Zijdehoenders	1	51	6	20					01	1	1	1	2
Witte leghorns	1	51	1	352					01	1	1	1	1
Witte leghorns, bloedmonster	1	51	1	168					01	1	1	3	1

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:
Afdeling:

Titel dierproef: Experiment 2 Effect van groepsselectie en opgroeien met een moeder op de gedragsmatige ontwikkeling en het welzijn van legkippen

Aanmeldcode / Protocol: 2009029.c

Stadia van de proef:

28-04-2009	Aangemeld	[redacted]
28-04-2009	Goedgekeurd	Secretaris van de DEC
12-05-2009	Wijzigen	[redacted]
12-05-2009	Gekopieerd	[redacted]

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

Ja, het project is gefinancierd met behulp van een [redacted] en als zodanig beoordeeld door drie internationale externe referenten. De proefopzet is goedgekeurd door de stuurgroep ingesteld door [redacted].

1.a. Met dit onderzoek te beantwoorden concrete vraag:

. Wetenschappelijke vraag m.b.t. van dieren

De proef is een vervollexperiment van het in 2007/2008 uitgevoerde experiment 'Effect van groepsselectie en opgroeien met een moeder op de gedragsmatige ontwikkeling en het welzijn van legkippen'. Experiment 2 zal uitgevoerd worden met de 3e generatie dieren uit het groepsselectie-experiment (experiment 1 is uitgevoerd met dieren van de 2e generatie). In experiment 2 zullen een aantal veelbelovende resultaten uit experiment 1 nader bestudeerd worden.

Het directe doel van de proef is om het effect te bestuderen van groepsselectie en van opgroeien met een moeder op de gedragsmatige ontwikkeling van legkippen. Hiertoe worden binnen het onderzoek de dieren gedragsmatig en (neuro-)fysiologisch gekarakteriseerd. De verwachting is dat groepsgeselecteerde kippen die opgegroeid zijn met een moeder beter bestand zullen zijn tegen stress, minder angstig en sociaal zijn en minder verenpikken en kannibalisme zullen vertonen dan individueel geselecteerde dieren of dieren die opgegroeid zijn zonder moeder.

De groepsgeselecteerde dieren komen voort uit een selectie-experiment dat wordt uitgevoerd binnen het project 'Genetics of robustness in laying hens'. Het zijn kuikens van de derde generatie dieren uit dit experiment. De ouders zijn geselecteerd op lage uitval. Dit wordt gedaan door zussen van de selectiekandidaten in groepskooien te huisvesten met vier dieren en vervolgens die selectiekandidaten te selecteren met de laagste uitval in de groepskooien (daarnaast worden individuele kenmerken van de selectiekandidaat meegenomen als eiproductie en eigewicht).

De individueel geselecteerde dieren komen voort uit het zelfde experiment en worden gebruikt als controle-populatie. Binnen deze populatie wordt random geselecteerd zonder rekening te houden met het

gedrag van de zussen die in groepskooien met vier kippen gehouden worden. Deze selectiemethode lijkt dus op de traditionele, individuele selectie op eiproductie en eigewicht. De groepsgeselecteerde en individueel geselecteerde dieren komen voort uit dezelfde zuivere selectielijn van [REDACTED].

Het uiteindelijke doel van het project is om een bijdrage te leveren aan de verbetering van fokprogramma's en opfokomstandigheden van legkippen, zodat deze dieren beter aangepast zijn aan huisvestingssystemen, waarin legkippen in grote groepen worden gehouden. Voor dergelijke systemen is een rustige en sociale kip nodig, die niet sterk geneigd is om verenpikken en kannibalisme te vertonen.

1.b. Het uiteindelijke doel (Maatschappelijke en wetenschappelijke relevantie):

De maatschappij vindt het onacceptabel dat legkippen in batterijen worden gehouden. Dit heeft ertoe geleid dat de traditionele batterijkooi vanaf 2012 verboden wordt. Vanaf die datum moeten alle kippen in de EU gehouden worden in verrijkte kooien of niet-kooisystemen (voliere of grondhuisvesting). Met name in de niet-kooisystemen doen zich regelmatig grote welzijnsproblemen voor door het ontstaan van verenpikken en kannibalisme. Deze proef hoopt uiteindelijk bij te dragen aan het verminderen van verenpikken en kannibalisme en hoopt zo een bijdrage te leveren aan het verbeteren van het welzijn van legkippen.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 29-04-2009 tot 01-07-2009

3. Specificatie diergroepen:

Zijdehoenders	20	kippen	Pleegmoeders	
Witte leghorns	352	kippen	Kuikens	
Witte leghorns, bloedmonster	168	kippen	Kuikens, bloedmonsters,	
immuunchallenge				

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

20 volwassen zijdehoenders (pleegmoeders)
520 Witte Leghorn kuikens (broedeieren uitgebroed op [REDACTED])

4.b. Motivatie waarom is gekozen voor deze diersoort:

Het betreft een wetenschappelijke vraag op gebied van het gedrag van kippen.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Binnen de proef worden 4 behandelingen onderzocht (selectiemethode*opgroeicondities):

- | | |
|-------------------------|-------------------------|
| 1. Groepsselectie | Opgroeien zonder moeder |
| 2. Individuele selectie | Opgroeien zonder moeder |
| 3. Groepsselectie | Opgroeien met moeder |
| 4. Individuele selectie | Opgroeien met moeder |

Iedere behandeling wordt 10x herhaald. Dit is het minimale aantal dat nodig is om significante verschillen in gedrag te kunnen detecteren. De statistische eenheid is groep.

Iedere groep bestaat uit 13 kuikens. Deze groepsgrootte is nodig om voldoende sociale interacties waar te kunnen nemen.

4.d. Herkomst:

Zijdehoenders F. die is in het reg.jr voor 1e keer hergebruikt

Witte leghorns A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Witte leghorns, bloedmonster A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

De 20 zijdehoenders zijn deels aangekocht in 2006/2007 van 3 particuliere eigenaars en deels gefokt uit deze dieren (2007). De zijdehoenders zijn reeds gehuisvest op [REDACTED]. De zijdehoenders zijn individueel gemerkt, zodat eventuele effecten van het wel/geen ervaring hebben met kuikens kunnen worden meegenomen.

De 520 vrouwelijke witte leghorns worden verkregen uit 1440 broedeieren geleverd door [REDACTED] en uitgebroed in de broedmachine op [REDACTED]. Alle eieren komen uit in de broedmachine (deze wordt geopend na 22 dagen).

Er wordt rekening gehouden met een uitkomstpercentage van 72%, gebaseerd op ervaringen met deze lijnen bij [REDACTED]. Er worden 520 vrouwelijke kuikens gebruikt voor de proef, 40 groepen van 13 dieren. Alle mannelijke kuikens en eventueel overblijvende vrouwelijke kuikens worden afgemaakt.

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

De kippen en kuikens zullen worden gehuisvest in stal 8b (8 groepen) en in stal 13 op proefaccommodatie [REDACTED] in grondhokken. De vloer is voor 2/3 bedekt met houtkrullen en voor 1/3 met zand. De hokken zijn verder uitgerust met een open kuikennest met daarboven de kunstmoeder (donkere warmtebron), een lage en een hoge zitstok (en vanaf 17 weken van een legnest).

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De dieren worden verzorgd door de diervverzorgers van Proefaccommodatie [REDACTED]. Tweemaal daags worden de dieren gecontroleerd en worden de eieren geraapt. Eventuele gewonde dieren worden onmiddellijk behandeld met wondspray. Indien dieren ernstig gewond zijn worden deze onmiddellijk op humane wijze gedood met behulp van een injectie met T61. Dit zal altijd gebeuren in samenspraak tussen onderzoeker en proefdiervverzorging.

Wanneer de kuikens in de grondhokken worden geplaatst, zal de omgevingstemperatuur op 30 graden celsius worden gehouden, om te voorkomen dat de kuikens verkleumen als zij onder de lamp/moeder vandaan gaan. Een hogere omgevingstemperatuur zou nadelig kunnen zijn voor de pleegmoeder. De temperatuur zal worden afgebouwd naar 20 graden celsius over een periode van 5 weken (2 graden per week). De temperatuur wordt gemonitord door min/max thermometers op dierniveau die tweemaal daags gecontroleerd worden. Daarnaast wordt ook het gedrag van de kuikens geobserveerd.

Bij eventuele ziektes/besmettingen zullen, in overleg, alle proefgroepen worden behandeld. Ernstig zieke dieren zullen worden verwijderd uit de proef en op humane wijze gedood met behulp van een injectie met T61.

De kuikens zullen worden geënt volgens het standaard schema:

dag 0 Marek Rispens + HVT intramusc
dag 0 IB MA 5 spray
dag 10 NCD 1e spray/atomist
dag 21 Gumboro drinkwater
dag 28 NCD 2e atomist
dag 42 PDww wingweb
dag 70 IB primer spray
dag 84 ILT spray/drinkwater/oogdruppel
dag 91 AE drinkwater
dag 98 NCD 3e atomist
dag 98 ND injectie

dag 112 IB H52 spray

5.c. Voeding:

De dieren worden onbeperkt gevoerd met opfokvoer en legmeel voor legkippen. Water is onbeperkt beschikbaar via een rondrinker. Tweemaal daags wordt er graan gestrooid in het strooisel

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

In deze proef zullen het effect van genetische selectiemethode en van opgroeiomstandigheden op de gedragsmatige ontwikkeling van legkippen onderzocht worden. De hypothese is dat kuikens die geselecteerd zijn door middel van groepselectie en die opgroeien met een moederkloek een evenwichtiger gedragsmatige ontwikkeling zullen hebben en een minder sterke neiging zullen hebben om verenpikken en kannibalisme te ontwikkelen dan individueel geselecteerde dieren, of dieren die zonder moederkloek zijn opgevoed.

Hiertoe worden de volgende vier proefgroepen vergeleken (10 herhalingen per proefgroep, groepen van 13 dieren in grondhuisvesting):

Groepselectie	Opgroeien zonder moeder
Individuele selectie	Opgroeien zonder moeder
Groepselectie	Opgroeien met moeder
Individuele selectie	Opgroeien met moeder

Voor deze proef worden 1440 broedeieren uitgebroed in de broedmachine op [REDACTED]; 720 eieren van kippen die geselecteerd zijn middels groepselectie en 720 eieren van kippen die geselecteerd zijn middels individuele selectie. De broedeieren worden verkregen via [REDACTED]

Tegelijk met het inleggen van de broedeieren in de broedmachine worden de zijdehoenders die broeds zijn op niet-bevruchte eieren te broeden gezet in het nest van de hierna beschreven grondhokken. Tijdens het broeden hebben de dieren onbeperkt toegang tot voer en water en zal een lichtschema gehanteerd worden van 16 uur licht en 8 uur donker. Vooraf wordt bijgehouden welke zijdehoenders broeds zijn.

Direct na uitkomst worden alle kuikens gesext. De mannelijke kuikens worden afgemaakt, de vrouwelijke kuikens worden geënt en gemerkt met behulp van een Swiftack (Gekleurd label met nummer; wordt ingebracht door het nekvel). 260 kuikens worden daarna in 20 groepen van 13 kuikens onder een broedse pleegmoeder (zijdehoender) geplaatst (130 kuikens per selectiemethode). 260 andere kuikens worden in 20 groepen van 13 kuikens onder een kunstmoeder (donkere warmtebron) geplaatst (130 kuikens per selectiemethode). De 4 proefgroepen worden volgens een vaststaand schema verdeeld over de hokken. Alle dieren worden gehuisvest in groepjes van 13 in een grondhok van 1,9 x 1,2 m met houtkrullen op de grond (2/3 van het oppervlak) en zand op de grond (1/3 van het oppervlak), en een zitstok van 1 m (35 cm boven grond), een nestruimte en onbeperkt voer en water. Om verkleumen van de kuikens te voorkomen worden alle hokken voorzien van een kunstmoeder (donkere warmtebron). De moederkloeken en de kunstmoeders worden na zes weken verwijderd. De moederkloeken worden dan gezamenlijk in 1 groep gehuisvest.

Gedrag thuishok 0-4 weken

Tijdens de vroege jeugd (0-4 weken) wordt de gedragsmatige ontwikkeling van de kuikens in detail gevolgd met behulp van gedragsobservaties in de thuishokken, met speciale aandacht voor de ontwikkeling van voedselzoekgedrag en sociaal gedrag.

Open veldtest 5-6 weken

De open-field test zal worden uitgevoerd in een nabijgelegen testruimte. Het dier wordt hier naartoe vervoerd in een doos. Ter plaatse wordt het dier in het midden van het verduisterde open-field geplaatst.

Vervolgens wordt het licht aangeschakeld en wordt het gedrag van het dier gedurende 5 minuten waargenomen. De latentietijd tot vocaliseren, opstaan en rondlopen wordt geregistreerd, alsmede overige gedragingen. De test vindt plaats tussen 8:00 en 17:00. Tijdstip van de dag zal worden opgenomen in het statistisch model.

Waarnemingen thuishok 7-52 weken

In het thuishok wordt van 7-52 weken 1 x per maand de ontwikkeling van verenpikken en kannibalisme vastgelegd door middel van gedragsobservaties (behaviour sampling). Daarnaast wordt de gedragsmatige ontwikkeling in detail gevolgd: ontwikkeling pikgedrag, sociaal gedrag, zitstokgebruik. De gedragsobservaties zullen worden uitgevoerd door directe waarnemingen in het thuishok. Iedere maand wordt iedere groep gedurende 25 minuten geobserveerd. De volgorde waarin de groepen geobserveerd zullen worden zal worden afgewisseld volgens schema. Om alle groepen te observeren zijn drie dagen nodig. Iedere week zal van maandag t/m woensdag geobserveerd worden. Het ethogram is gericht op de ontwikkeling van pikgedrag, sociaal gedrag en zitstokgebruik. De dieren zullen op individueel niveau geobserveerd worden. De waarnemingen vinden plaats tussen 8:00 en 17:00. Tijdstip van de dag zal worden opgenomen in het statistisch model. Ook zal de veerschade 1x per maand worden vastgesteld volgens de methode ontwikkeld door Tauson et al. (2005), aansluitend op de gedragsobservaties. Hierbij zal ook gekeken worden naar verwondingen aan de tenen door teenpikken.

Tijdens de gehele proef zal ook de eierproductie per groep worden bijgehouden. Ook zullen de dieren op 7, 17 en 52 weken worden gewogen.

Manual restraint test 55 weken

Op een leeftijd van 55 weken wordt bij een deel van de dieren de manual restraint test uitgevoerd. Van zes groepen per behandeling (24 groepen in totaal) worden ad random zeven dieren geselecteerd en individueel getest. De 24 groepen worden volgens schema afgewisseld, zodanig dat er nooit twee dieren uit dezelfde groep of twee dieren uit naburige groepen achter elkaar worden getest. Dus in totaal worden $n=168$ dieren blootgesteld aan de manual restraint test. De manual restraint wordt door twee personen uitgevoerd. Hiervoor wordt in de analyse gecorrigeerd. Voor de manual restraint test wordt een dier gevangen en vervolgens gedurende vijf minuten vastgehouden. Dit wordt gedaan door met de linkerhand de poten van de kip losjes vast te houden en de rechterhand met lichte druk op de borst van het dier te leggen. Als het dier zich verzet, worden de poten met de linkerhand gefixeerd om de kip weer in positie te brengen. Gedurende deze vijf minuten wordt de latentietijd tot vocaliseren en verzetten gemeten en ook het aantal vocalisaties en verzetten. Vervolgens wordt de kip gedurende 10 minuten apart gezet in een plastic krat. Na 15 minuten wordt er een bloedmonster genomen van 6 ml. Een deel van het bloedmonster (plasma) wordt gebruikt voor de bepaling van het corticosteroongehalte na manual restraint, een deel van het bloedmonster voor bepaling van het serotoninegehalte (volbloed) en een deel wordt gebruikt voor het verkrijgen van plaatjes-rijk plasma; hieruit wordt de serotonine-uptake in bloedplaatjes bepaald.

Immuunchallenge 57 weken

Dezelfde dieren als gebruikt in de Manual Restraint test op 55 weken worden op 57 weken onderworpen aan een immuunchallenge. De verwachting is dat effecten van de manual restraint test (milde stressor) op het immuunsysteem 1 week na de test verdwenen zijn. Op 57 weken worden deze dieren intratracheaal geïmmuniseerd met 1 mg HuSA in 0,5 ml PBS buffer. Alle dieren worden op 1 dag geïmmuniseerd. Een dag voor en een dag na de HuSA immunisatie worden alle dieren gewogen. Op dag 0, 7, 14 en 21 zal 1 ml bloed worden afgenomen uit de vleugelvene om de immuunreactie in de vorm van antistoffen tegen HuSA te meten. In de monsters van dag 0 wordt ook de algemene weerstand (Nabs) gemeten. Voor, tijdens en na de immuunchallenge worden extra gedragsobservaties uitgevoerd om 1) pikkers en slachtoffers te identificeren en 2) effecten van de immunisatie op verenpikken en kannibalisme te onderzoeken. Eerder onderzoek (Parmentier et al., 2009) heeft er op gewezen dat een immuunchallenge zou kunnen leiden tot een toename in verenpikgedrag. Dat wordt onderzocht in de huidige proef. De dieren worden daarbij als hun eigen controle gebruikt (door te meten voor, tijdens en na immunisatie). Daarnaast zijn ook lijnverschillen in immuunchallenge tussen de lage uitvallijn en de controlelijn indicatief

voor de relatie tussen verenpikken / kannibalisme en immuunrespons.

Aan het einde van de proef (na 60 weken) zullen de uitgelegde hennen op humane wijze worden afgemaakt met behulp van T-61 en vervolgens worden gebruikt voor metingen op gebied van fluctuerende asymmetrie (FA). Fluctuerende asymmetrie is een maat voor ontwikkelingsinstabiliteit, die gebruikt kan worden als indicator voor dierenwelzijn: dieren die tijdens hun ontwikkeling veel stress ondervinden en hiermee niet goed kunnen omgaan ontwikkelen zich doorgaans minder symmetrisch dan hun soortgenoten.

6.b. Mate van ongerief:

Zijdehoenders A. Gering
Witte leghorns A. Gering
Witte leghorns, bloedmonster C. Matig

6.c. Waaruit bestaat het ongerief en hoe bent u tot uw inschatting van de mate van ongerief gekomen?

- Sexen van de kuikens (witte leghorns)
- Merken van de kuikens met behulp van een Swiftack (witte leghorns)
- De zijdehoenders en witte leghorns zullen een aantal malen gehanteerd moeten worden. Dit zal zorgvuldig gebeuren door een ervaren persoon (zijdehoenders en witte leghorns)
- Isolatie van groepsgenoten in open-field test gedurende 5 minuten (witte leghorns)
- Risico op verenpikken, kannibalisme en teenpikken (witte leghorns)
- Stress door hanteren en 5 min manual restraint (witte leghorns bloedmonster)
- 5 x Bloedmonster nemen uit de vleugelvele (witte leghorns bloedmonster)
- immunisatie met HuSA (witte leghorns bloedmonster)
- Afmaken op 60 weken leeftijd (witte leghorns)

7. Welke maatregelen heeft u getroffen om het ongerief tot een minimum te beperken?

Anesthesie:

Zijdehoenders A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Witte leghorns A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Witte leghorns, bloedmonster A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

Zijdehoenders A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Witte leghorns A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Witte leghorns, bloedmonster A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

- Sexen van de kuikens wordt zorgvuldig uitgevoerd door een professionele kuikensexer (extern ingehuurd)
- Het merken van de kuikens met behulp van een Swiftack wordt zorgvuldig uitgevoerd volgens de instructies van de leverancier. Het merk wordt aangebracht door het nekvel

-Zorgvuldig hanteren dieren door ervaren persoon

- Voor de open-field test worden de kuikens gedurende 5 minuten individueel getest in een geïsoleerde testruimte. De testtijd is zo kort mogelijk gehouden om het ongerief zoveel mogelijk te beperken.

-Er bestaat een risico dat de dieren verenpikken en kannibalisme ontwikkelen. De dieren zullen dagelijks tweemaal gecontroleerd worden. Eventuele gewonde dieren worden onmiddellijk verzorgd met wondspray. Indien de dieren ernstig gewond zijn worden deze dieren onmiddellijk verwijderd en op humane wijze gedood met behulp van T-61. In experiment 1 zijn er vooral problemen geweest met teenpikken. Binnen deze proef is besloten om probleemgroepen bij een ernstige uitbraak van teenpikken in zijn geheel te euthanaseren, omdat de ervaring leerde dat het gedrag binnen deze groepen niet te stoppen was.

- De dosis HuSA (1mg) leidt niet tot een langdurige aantasting van de gezondheid of het welzijn. Op korte termijn zal er wel sprake zijn van een cachetine reactie. Overig ongerief bestaat uit het 5 x afnemen van bloed en het wegen en vangen van de dieren. Bloedmonsters worden genomen door twee ervaren biotechnici en de dieren worden zorgvuldig gehanteerd door ervaren personen. Er is een kans op een toename in verenpikken en kannibalisme t.g.v. de intratracheale immunisatie met HuSA. Indien dit het geval is zal het protocol met betrekking tot gewonde dieren strikt worden gevolgd en zal er contact worden opgenomen met de proefdierdeskundige.

- De kippen zullen op humane wijze worden gedood door een daartoe bevoegd persoon met behulp van T-61.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

Zijdehoenders Het dier is na de proef in leven gelaten.

Witte leghorns Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.

Witte leghorns, bloedmonster Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.

Toelichting:

De zijdehoenders worden na de proef aangehouden voor een vervollexperiment. Ze worden gehuisvest in 3 groepen van 7 dieren in een ruim grondhok met houtkrullen op de grond, legnesten, zitstokken en onbeperkt voer en water.

De witte leghorns worden op een leeftijd van 60 weken gedood voor de FA-metingen.

9. Welke alternatieven (vervanging, verfijning, vermindering) zijn voor de beschreven experimenten overwogen en waarom zijn deze verworpen?

Er zijn ons geen alternatieven bekend voor dit gedragsexperiment. Wel is ernaar gestreefd om het aantal proefdieren zo laag mogelijk te houden.

10. Namen van direct betrokkenen bij de dierproef (artikel 9- en 12-functionarissen):

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]



Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2009029.c (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					35	1	1	01					
Zijdehoenders	1	51	6	20					01	1	1	1	3
Witte leghorns	1	51	1	352					01	1	1	1	1
Witte leghorns, bloedmonster	1	51	1	168					01	1	1	3	1

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

[Redacted]

Aanvrager:
Afdeling:

[Redacted]

[Redacted]

Titel dierproef: Experiment 2 Effect van groepsselectie en opgroeien met een moeder op de gedragsmatige ontwikkeling en het welzijn van legkippen

Aanmeldcode / Protocol: 2009029.d

Stadia van de proef:

12-05-2009	Aangemeld	[Redacted]
13-05-2009	Goedgekeurd	[Redacted]
16-07-2009	Proef gestart	[Redacted]
16-07-2009	Proef beëindigd	[Redacted]
17-07-2009	Welzijnsevaluatie aangemaakt	[Redacted]
17-07-2009	Welzijnsevaluatie aangemeld	[Redacted]
17-07-2009	Welzijnsevaluatie wijzigen	[Redacted]
17-07-2009	Welzijnsevaluatie aangemeld	[Redacted]
20-07-2009	Welzijnsevaluatie goedgekeurd	[Redacted]

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

Ja, het project is gefinancierd met behulp van een [Redacted] en als zodanig beoordeeld door drie internationale externe referenten. De proefopzet is goedgekeurd door de stuurgroep ingesteld door [Redacted].

1.a. Met dit onderzoek te beantwoorden concrete vraag:

. Wetenschappelijke vraag m.b.t. van dieren

De proef is een vervollexperiment van het in 2007/2008 uitgevoerde experiment 'Effect van groepsselectie en opgroeien met een moeder op de gedragsmatige ontwikkeling en het welzijn van legkippen'. Experiment 2 zal uitgevoerd worden met de 3e generatie dieren uit het groepsselectie-experiment (experiment 1 is uitgevoerd met dieren van de 2e generatie). In experiment 2 zullen een aantal veelbelovende resultaten uit experiment 1 nader bestudeerd worden.

Het directe doel van de proef is om het effect te bestuderen van groepsselectie en van opgroeien met een moeder op de gedragsmatige ontwikkeling van legkippen. Hiertoe worden binnen het onderzoek de dieren gedragsmatig en (neuro-)fysiologisch gekarakteriseerd. De verwachting is dat groepsgeselecteerde kippen die opgegroeid zijn met een moeder beter bestand zullen zijn tegen stress, minder angstig en sociaal zijn en minder veren pikken en kannibalisme zullen vertonen dan individueel geselecteerde dieren of dieren die opgegroeid zijn zonder moeder.

De groepsgeselecteerde dieren komen voort uit een selectie-experiment dat wordt uitgevoerd binnen het project 'Genetics of robustness in laying hens'. Het zijn kuikens van de derde generatie dieren uit dit experiment. De ouders zijn geselecteerd op lage uitval. Dit wordt gedaan door zussen van de selectiekandidaten in groepskooien te huisvesten met vier dieren en vervolgens die selectiekandidaten te

selecteren met de laagste uitval in de groepskooien (daarnaast worden individuele kenmerken van de selectiekandidaat meegenomen als eiproductie en eigewicht).

De individueel geselecteerde dieren komen voort uit het zelfde experiment en worden gebruikt als controle-populatie. Binnen deze populatie wordt random geselecteerd zonder rekening te houden met het gedrag van de zussen die in groepskooien met vier kippen gehouden worden. Deze selectiemethode lijkt dus op de traditionele, individuele selectie op eiproductie en eigewicht. De groepsgeselecteerde en individueel geselecteerde dieren komen voort uit dezelfde zuivere selectielijn van [REDACTED].

Het uiteindelijke doel van het project is om een bijdrage te leveren aan de verbetering van fokprogramma's en opfokomstandigheden van legkippen, zodat deze dieren beter aangepast zijn aan huisvestingssystemen, waarin legkippen in grote groepen worden gehouden. Voor dergelijke systemen is een rustige en sociale kip nodig, die niet sterk geneigd is om verenpikken en kannibalisme te vertonen.

1.b. Het uiteindelijke doel (Maatschappelijke en wetenschappelijke relevantie):

De maatschappij vindt het onacceptabel dat legkippen in batterijen worden gehouden. Dit heeft ertoe geleid dat de traditionele batterijkooi vanaf 2012 verboden wordt. Vanaf die datum moeten alle kippen in de EU gehouden worden in verrijkte kooien of niet-kooisystemen (voliere of grondhuisvesting). Met name in de niet-kooisystemen doen zich regelmatig grote welzijnsproblemen voor door het ontstaan van verenpikken en kannibalisme. Deze proef hoopt uiteindelijk bij te dragen aan het verminderen van verenpikken en kannibalisme en hoopt zo een bijdrage te leveren aan het verbeteren van het welzijn van legkippen.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 13-05-2009 tot 15-07-2009

3. Specificatie diergroepen:

Zijdehoenders	20	kippen	Pleegmoeders	
Witte leghorns	352	kippen	Kuikens	
Witte leghorns, bloedmonster	168	kippen	Kuikens, bloedmonsters,	
immuunchallenge				

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

20 volwassen zijdehoenders (pleegmoeders)
520 Witte Leghorn kuikens (broedeieren uitgebroed op [REDACTED])

4.b. Motivatie waarom is gekozen voor deze diersoort:

Het betreft een wetenschappelijke vraag op gebied van het gedrag van kippen.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Binnen de proef worden 4 behandelingen onderzocht (selectiemethode*opgroeicondities):

- | | |
|-------------------------|-------------------------|
| 1. Groepsselectie | Opgroeien zonder moeder |
| 2. Individuele selectie | Opgroeien zonder moeder |
| 3. Groepsselectie | Opgroeien met moeder |
| 4. Individuele selectie | Opgroeien met moeder |

Iedere behandeling wordt 10x herhaald. Dit is het minimale aantal dat nodig is om significante verschillen in gedrag te kunnen detecteren. De statistische eenheid is groep.

Iedere groep bestaat uit 13 kuikens. Deze groepsgrootte is nodig om voldoende sociale interacties waar te kunnen nemen.

4.d. Herkomst:

Zijdehoenders F. die is in het reg.jr voor 1e keer hergebruikt

Witte leghorns A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Witte leghorns, bloedmonster A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

De 20 zijdehoenders zijn deels aangekocht in 2006/2007 van 3 particuliere eigenaars en deels gefokt uit deze dieren (2007). De zijdehoenders zijn reeds gehuisvest op [REDACTED]. De zijdehoenders zijn individueel gemerkt, zodat eventuele effecten van het wel/geen ervaring hebben met kuikens kunnen worden meegenomen.

De 520 vrouwelijke witte leghorns worden verkregen uit 1440 broedeieren geleverd door [REDACTED] en uitgebroed in de broedmachine op [REDACTED]. Alle eieren komen uit in de broedmachine (deze wordt geopend na 22 dagen).

Er wordt rekening gehouden met een uitkomstpercentage van 72%, gebaseerd op ervaringen met deze lijnen bij [REDACTED]. Er worden 520 vrouwelijke kuikens gebruikt voor de proef, 40 groepen van 13 dieren. Alle mannelijke kuikens en eventueel overblijvende vrouwelijke kuikens worden afgemaakt.

5.a. Accommodatie:

De kippen en kuikens zullen worden gehuisvest in stal 8b (8 groepen) en in stal 13 op proefaccommodatie [REDACTED] in grondhokken. De vloer is voor 2/3 bedekt met houtkrullen en voor 1/3 met zand. De hokken zijn verder uitgerust met een open kuikennest met daarboven de kunstmoeder (donkere warmtebron), een lage en een hoge zitstok (en vanaf 17 weken van een legnest).

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De dieren worden verzorgd door de diervverzorgers van Proefaccommodatie [REDACTED]. Tweemaal daags worden de dieren gecontroleerd en worden de eieren geraapt. Eventuele gewonde dieren worden onmiddellijk behandeld met wondspray. Indien dieren ernstig gewond zijn worden deze onmiddellijk op humane wijze gedood met behulp van een injectie met T61. Dit zal altijd gebeuren in samenspraak tussen onderzoeker en proefdiervverzorging.

Wanneer de kuikens in de grondhokken worden geplaatst, zal de omgevingstemperatuur op 30 graden celsius worden gehouden, om te voorkomen dat de kuikens verkleumen als zij onder de lamp/moeder vandaan gaan. Een hogere omgevingstemperatuur zou nadelig kunnen zijn voor de pleegmoeder. De temperatuur zal worden afgebouwd naar 20 graden celsius over een periode van 5 weken (2 graden per week). De temperatuur wordt gemonitord door min/max thermometers op dierniveau die tweemaal daags gecontroleerd worden. Daarnaast wordt ook het gedrag van de kuikens geobserveerd.

Bij eventuele ziektes/besmettingen zullen, in overleg, alle proefgroepen worden behandeld. Ernstig zieke dieren zullen worden verwijderd uit de proef en op humane wijze gedood met behulp van een injectie met T61.

De kuikens zullen worden geënt volgens het standaard schema:

dag 0 Marek Rispens + HVT intramusc
dag 0 IB MA 5 spray
dag 10 NCD 1e spray/atomist
dag 21 Gumboro drinkwater
dag 28 NCD 2e atomist
dag 42 PDww wingweb

dag 70 IB primer spray
dag 84 ILT spray/drinkwater/oogdruppel
dag 91 AE drinkwater
dag 98 NCD 3e atomist
dag 98 ND injectie
dag 112 IB H52 spray

5.c. Voeding:

De dieren worden onbeperkt gevoerd met opfokvoer en legmeel voor legkippen. Water is onbeperkt beschikbaar via een rondrinker. Tweemaal daags wordt er graan gestrooid in het strooisel

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

In deze proef zullen het effect van genetische selectiemethode en van opgroeiomstandigheden op de gedragsmatige ontwikkeling van legkippen onderzocht worden. De hypothese is dat kuikens die geselecteerd zijn door middel van groepsselectie en die opgroeien met een moederkloek een evenwichtiger gedragsmatige ontwikkeling zullen hebben en een minder sterke neiging zullen hebben om verenpikken en kannibalisme te ontwikkelen dan individueel geselecteerde dieren, of dieren die zonder moederkloek zijn opgevoerd.

Hiertoe worden de volgende vier proefgroepen vergeleken (10 herhalingen per proefgroep, groepen van 13 dieren in grondhuisvesting):

Groepsselectie	Opgroeien zonder moeder
Individuele selectie	Opgroeien zonder moeder
Groepsselectie	Opgroeien met moeder
Individuele selectie	Opgroeien met moeder

Voor deze proef worden 1440 broedeieren uitgebreed in de broedmachine op [REDACTED]; 720 eieren van kippen die geselecteerd zijn middels groepsselectie en 720 eieren van kippen die geselecteerd zijn middels individuele selectie. De broedeieren worden verkregen via [REDACTED].

Tegelijk met het inleggen van de broedeieren in de broedmachine worden de zijdehoenders die broeds zijn op niet-bevruchte eieren te broeden gezet in het nest van de hierna beschreven grondhokken. Tijdens het broeden hebben de dieren onbeperkt toegang tot voer en water en zal een lichtschema gehanteerd worden van 16 uur licht en 8 uur donker. Vooraf wordt bijgehouden welke zijdehoenders broeds zijn.

Direct na uitkomst worden alle kuikens gesext. De mannelijke kuikens worden afgemaakt, de vrouwelijke kuikens worden geënt en gemerkt met behulp van een Swiftack (Gekleurd label met nummer; wordt ingebracht door het nekvel). 260 kuikens worden daarna in 20 groepen van 13 kuikens onder een broedse pleegmoeder (zijdehoender) geplaatst (130 kuikens per selectiemethode). 260 andere kuikens worden in 20 groepen van 13 kuikens onder een kunstmoeder (donkere warmtebron) geplaatst (130 kuikens per selectiemethode). De 4 proefgroepen worden volgens een vaststaand schema verdeeld over de hokken. Alle dieren worden gehuisvest in groepjes van 13 in een grondhok van 1,9 x 1,2 m met houtkrullen op de grond (2/3 van het oppervlak) en zand op de grond (1/3 van het oppervlak), en een zitstok van 1 m (35 cm boven grond), een nestruimte en onbeperkt voer en water. Om verkleumen van de kuikens te voorkomen worden alle hokken voorzien van een kunstmoeder (donkere warmtebron). De moederkloeken en de kunstmoeders worden na zes weken verwijderd. De moederkloeken worden dan gezamenlijk in 1 groep gehuisvest.

Gedrag huishok 0-4 weken

Tijdens de vroege jeugd (0-4 weken) wordt de gedragsmatige ontwikkeling van de kuikens in detail gevolgd met behulp van gedragsobservaties in de huishokken, met speciale aandacht voor de ontwikkeling van voedselzoekgedrag en sociaal gedrag.

Open veldtest 5-6 weken

De open-field test zal worden uitgevoerd in een nabijgelegen testruimte. Het dier wordt hier naartoe vervoerd in een doos. Ter plaatse wordt het dier in het midden van het verduisterde open-field geplaatst. Vervolgens wordt het licht aangeschakeld en wordt het gedrag van het dier gedurende 5 minuten waargenomen. De latentietijd tot vocaliseren, opstaan en rondlopen wordt geregistreerd, alsmede overige gedragingen. De test vindt plaats tussen 8:00 en 17:00. Tijdstip van de dag zal worden opgenomen in het statistisch model.

Waarnemingen huishok 7-52 weken

In het huishokm wordt van 7-52 weken 1 x per maand de ontwikkeling van verenpikken en kannibalisme vastgelegd door middel van gedragsobservaties (behaviour sampling). Daarnaast wordt de gedragsmatige ontwikkeling in detail gevolgd: ontwikkeling pikgedrag, sociaal gedrag, zitstokgebruik. De gedragsobservaties zullen worden uitgevoerd door directe waarnemingen in het huishok. Iedere maand wordt iedere groep gedurende 25 minuten geobserveerd. De volgorde waarin de groepen geobserveerd zullen worden zal worden afgewisseld volgens schema. Om alle groepen te observeren zijn drie dagen nodig. Iedere week zal van maandag t/m woensdag geobserveerd worden. Het ethogram is gericht op de ontwikkeling van pikgedrag, sociaal gedrag en zitstokgebruik. De dieren zullen op individueel niveau geobserveerd worden. De waarnemingen vinden plaats tussen 8:00 en 17:00. Tijdstip van de dag zal worden opgenomen in het statistisch model. Ook zal de veerschade 1x per maand worden vastgesteld volgens de methode ontwikkeld door Tauson et al. (2005), aansluitend op de gedragsobservaties. Hierbij zal ook gekeken worden naar verwondingen aan de tenen door teenpikken.

Tijdens de gehele proef zal ook de eierproductie per groep worden bijgehouden. Ook zullen de dieren op 7, 17 en 52 weken worden gewogen.

Manual restraint test 55 weken

Op een leeftijd van 55 weken wordt bij een deel van de dieren de manual restraint test uitgevoerd. Van zes groepen per behandeling (24 groepen in totaal) worden ad random zeven dieren geselecteerd en individueel getest. De 24 groepen worden volgens schema afgewisseld, zodanig dat er nooit twee dieren uit dezelfde groep of twee dieren uit naburige groepen achter elkaar worden getest. Dus in totaal worden $n=168$ dieren blootgesteld aan de manual restraint test. De manual restraint wordt door twee personen uitgevoerd. Hiervoor wordt in de analyse gecorrigeerd. Voor de manual restraint test wordt een dier gevangen en vervolgens gedurende vijf minuten vastgehouden. Dit wordt gedaan door met de linkerhand de poten van de kip losjes vast te houden en de rechterhand met lichte druk op de borst van het dier te leggen. Als het dier zich verzet, worden de poten met de linkerhand gefixeerd om de kip weer in positie te brengen. Gedurende deze vijf minuten wordt de latentietijd tot vocaliseren en verzetten gemeten en ook het aantal vocalisaties en verzetten. Vervolgens wordt de kip gedurende 10 minuten apart gezet in een plastic krat. Na 15 minuten wordt er een bloedmonster genomen van 6 ml. Een deel van het bloedmonster (plasma) wordt gebruikt voor de bepaling van het corticosterongehalte na manual restraint, een deel van het bloedmonster voor bepaling van het serotoninegehalte (volbloed) en een deel wordt gebruikt voor het verkrijgen van plaatjes-rijk plasma; hieruit wordt de serotonine-uptake in bloedplaatjes bepaald.

Immuunchallenge 57 weken

Dezelfde dieren als gebruikt in de Manual Restraint test op 55 weken worden op 57 weken onderworpen aan een immuunchallenge. De verwachting is dat effecten van de manual restraint test (milde stressor) op het immuunsysteem 1 week na de test verdwenen zijn. Op 57 weken worden deze dieren intratracheaal geïmmuniseerd met 1 mg HuSA in 0,5 ml PBS buffer. Alle dieren worden op 1 dag geïmmuniseerd. Een dag voor en een dag na de HuSA immunisatie worden alle dieren gewogen. Op dag 0, 7, 14 en 21 zal 1 ml bloed worden afgenomen uit de vleugelvene om de immuunreactie in de vorm van antistoffen tegen HuSA te meten. In de monsters van dag 0 wordt ook de algemene weerstand (Nabs) gemeten.

Voor, tijdens en na de immuunchallenge worden extra gedragsobservaties uitgevoerd om 1) pikkers en slachtoffers te identificeren en 2) effecten van de immunisatie op verenpikken en kannibalisme te onderzoeken. Eerder onderzoek (Parmentier et al., 2009) heeft er op gewezen dat een immuunchallenge zou kunnen leiden tot een toename in verenpikgedrag. Dat wordt onderzocht in de huidige proef. De dieren worden daarbij als hun eigen controle gebruikt (door te meten voor, tijdens en na immunisatie). Daarnaast zijn ook lijnverschillen in immuunchallenge tussen de lage uitvallijn en de controlelijn indicatief voor de relatie tussen verenpikken / kannibalisme en immuunrespons. Op 62 weken wordt bij 48 dieren (12 per behandeling) nog 0,5 ml bloed afgenomen om het aantal lymfocyten in volbloed te bepalen. Deze meting wordt vijf weken na de immuunchallenge uitgevoerd omdat het effect van de immunisatie op het aantal lymfocyten dan het best te meten is.

Aan het einde van de proef (na 62 weken) zullen de uitgelegde hennen op humane wijze worden afgemaakt met behulp van T-61 en vervolgens worden gebruikt voor metingen op gebied van fluctuerende asymmetrie (FA). Fluctuerende asymmetrie is een maat voor ontwikkelingsinstabiliteit, die gebruikt kan worden als indicator voor dierenwelzijn: dieren die tijdens hun ontwikkeling veel stress ondervinden en hiermee niet goed kunnen omgaan ontwikkelen zich doorgaans minder symmetrisch dan hun soortgenoten.

6.b. Mate van ongerief:

Zijdehoenders A. Gering
Witte leghorns A. Gering
Witte leghorns, bloedmonster C. Matig

6.c. Waaruit bestaat het ongerief en hoe bent u tot uw inschatting van de mate van ongerief gekomen?

- Sexen van de kuikens (witte leghorns)
- Merken van de kuikens met behulp van een Swiftack (witte leghorns)
- De zijdehoenders en witte leghorns zullen een aantal malen gehanteerd moeten worden. Dit zal zorgvuldig gebeuren door een ervaren persoon (zijdehoenders en witte leghorns)
- Isolatie van groepsgenoten in open-field test gedurende 5 minuten (witte leghorns)
- Risico op verenpikken, kannibalisme en teenpikken (witte leghorns)
- Stress door hanteren en 5 min manual restraint (witte leghorns bloedmonster)
- 5 x Bloedmonster nemen uit de vleugelvele (witte leghorns bloedmonster)
- immunisatie met HuSA (witte leghorns bloedmonster)
- Afmaken op 62 weken leeftijd (witte leghorns)

7. Welke maatregelen heeft u getroffen om het ongerief tot een minimum te beperken?

Anesthesie:

Zijdehoenders A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Witte leghorns A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Witte leghorns, bloedmonster A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

Zijdehoenders A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Witte leghorns A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

Witte leghorns, bloedmonster A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

- Sexen van de kuikens wordt zorgvuldig uitgevoerd door een professionele kuikensexer (extern ingehuurd)

- Het merken van de kuikens met behulp van een Swiftack wordt zorgvuldig uitgevoerd volgens de instructies van de leverancier. Het merk wordt aangebracht door het nekvel

-Zorgvuldig hanteren dieren door ervaren persoon

- Voor de open-field test worden de kuikens gedurende 5 minuten individueel getest in een geïsoleerde testruimte. De testtijd is zo kort mogelijk gehouden om het ongerief zoveel mogelijk te beperken.

-Er bestaat een risico dat de dieren veren pikken en kannibalisme ontwikkelen. De dieren zullen dagelijks tweemaal gecontroleerd worden. Eventuele gewonde dieren worden onmiddellijk verzorgd met wondspray. Indien de dieren ernstig gewond zijn worden deze dieren onmiddellijk verwijderd en op humane wijze gedood met behulp van T-61. In experiment 1 zijn er vooral problemen geweest met teen pikken. Binnen deze proef is besloten om probleemgroepen bij een ernstige uitbraak van teen pikken in zijn geheel te euthanaseren, omdat de ervaring leerde dat het gedrag binnen deze groepen niet te stoppen was.

- De dosis HuSA (1mg) leidt niet tot een langdurige aantasting van de gezondheid of het welzijn. Op korte termijn zal er wel sprake zijn van een cachetine reactie. Overig ongerief bestaat uit het 5 x afnemen van bloed en het wegen en vangen van de dieren. Bloedmonsters worden genomen door twee ervaren biotechnici en de dieren worden zorgvuldig gehanteerd door ervaren personen. Er is een kans op een toename in veren pikken en kannibalisme t.g.v. de intratracheale immunisatie met HuSA. Indien dit het geval is zal het protocol met betrekking tot gewonde dieren strikt worden gevolgd en zal er contact worden opgenomen met de proefdierdeskundige.

- De kippen zullen op humane wijze worden gedood door een daartoe bevoegd persoon met behulp van T-61.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

Zijdehoenders Het dier is na de proef in leven gelaten.

Witte leghorns Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.

Witte leghorns, bloedmonster Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.

Toelichting:

De zijdehoenders worden na de proef aangehouden voor een vervollexperiment. Ze worden gehuisvest in 3 groepen van 7 dieren in een ruim grondhok met houtkrullen op de grond, legnesten, zitstokken en onbeperkt voer en water.

De witte leghorns worden op een leeftijd van 62 weken gedood voor de FA-metingen.

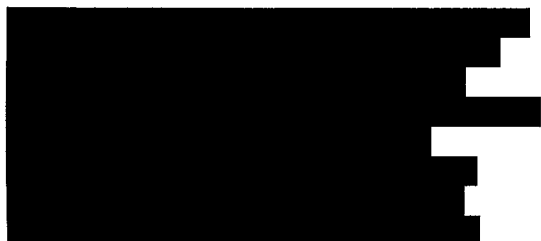
9. Welke alternatieven (vervanging, verfijning, vermindering) zijn voor de beschreven experimenten overwogen en waarom zijn deze verworpen?

Er zijn ons geen alternatieven bekend voor dit gedragsexperiment. Wel is ernaar gestreefd om het aantal proefdieren zo laag mogelijk te houden.

10. Namen van direct betrokkenen bij de dierproef (artikel 9- en 12-functionarissen):

[REDACTED]

[REDACTED]



Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2009029.d (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					35	1	1	01					
Zijdehoenders	1	51	6	20					01	1	1	1	3
Witte leghorns	1	51	1	352					01	1	1	1	1
Witte leghorns, bloedmonster	1	51	1	168					01	1	1	3	1

Uw aanvraag 2009029.a, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Wijzigen' gekregen.

De DEC onderschrijft het belang van de proef, maar heeft bij de opzet een inhoudelijk vraag ter verheldering waarop ze een antwoord wil alvorens tot een ethische afweging te komen:

Bij 6.a. (proefschem) geeft u aan dat u het effect van immunisatie op veren pikken en kannibalisme wilt onderzoeken. Het is de DEC niet duidelijk, hoe u dat wilt doen met de gekozen opzet, aangezien u geen blanco groep gebruikt. De DEC verzoekt u dit duidelijker toe te lichten.

Daarnaast heeft de DEC een redactionele vraag. Zij verzoekt u de leeftijden van de dieren, waarop de verschillende handelingen worden verricht nauwkeuriger aan te geven, aangezien dat nu niet ondubbelzinnig staat vermeld (manual restraint test op 30 of op 55 weken, afmaken op 52 of 70 weken).

Uw antwoorden zullen door het klein comité worden besproken en afgehandeld.

Uw aanvraag 2009029.b, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Wijzigen' gekregen.

Indien de status op 'wijzigen' is gezet en u wilt deze aanvraag gaan wijzigen, dan selecteert u deze aanvraag en kiest u vanuit het menu 'proef', en dan de optie 'wijzigen'. Er wordt dan een kopie van de originele aanvraag gemaakt. Deze kopie kunt u vervolgens wijzigen, en opnieuw aanmelden.

Met vriendelijke groet,


Secretaris DEC

Uw aanvraag 2009029.c, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Goedgekeurd' gekregen.

De DEC is van mening dat het doel van de proef opweegt tegen het te verwachten maximaal matige ongerief dat de dieren ondergaan en dat de vraag m.b.t. alternatieven voldoende is beantwoord.

Met vriendelijke groet,


Secretaris DEC

Uw aanvraag 2009029.c, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Wijzigen' gekregen.

Wijziging datum en toevoegen bloedmonster. Graag ook argumentatie geven waarom dit extra bloedmonster nodig is.

Indien de status op 'wijzigen' is gezet en u wilt deze aanvraag gaan wijzigen, dan selecteert u deze aanvraag en kiest u vanuit het menu 'proef', en dan de optie 'wijzigen'. Er wordt dan een kopie van de originele aanvraag gemaakt. Deze kopie kunt u vervolgens wijzigen, en opnieuw aanmelden.

Na aanmelding zal de wijziging door de proefdierdeskundige worden afgehandeld.

Met vriendelijke groet,


Proefdierdeskundige

Uw aanvraag 2009029.d, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Goedgekeurd' gekregen.

Met vriendelijke groet,



Proefdierdeskundige