

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

[Redacted]

Aanvrager:
Afdeling:

[Redacted]

Titel dierproef: Vin- en lichaamskinematica en stromingsonderzoek continu zwemmen, hovering en manoeuvreerbaarheid van zeepaard, zeenaald en sepia

Aanmeldcode / Protocol: 2011027.a

Stadia van de proef:

04-02-2011	Aangemeld	[Redacted]
10-02-2011	Wijzigen	Secretaris van de DEC
13-02-2011	Gekopieerd	[Redacted]
26-04-2011	Gekopieerd	[Redacted]

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

De proef is wetenschappelijk waardevol bevonden door [Redacted] en [Redacted], allebei verbonden als onderzoeker aan [Redacted] en experts op het gebied van zwemgedrag van vissen. De vraagstelling is tot stand gekomen op basis van een literatuurstudie van [Redacted] met betrekking tot zijn promotie.

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t.wetensch. vraag

Het hoofddoel van dit onderzoek is tweeledig:

- 1) een beter inzicht verkrijgen in propulsie en manoeuvreerbaarheid door middel van undulerende vinnen.
- 2) de ontwikkeling van een stabiel en manoeuvreerbaar biomimetisch onderwater meetplatform bij lage snelheden.

Het sensor platform zal gebruikt worden voor seismische metingen, inspecties en als hulp bij andere onderwater taken. Het voortstuwingsonderdeel van deze robot bestaat uit meerdere undulerende vinnen. Dit onderzoek loopt in twee parallelle lijnen. Het biologische aspect van het onderzoek vindt plaats aan het [Redacted]. Het ontwerp van een geïntegreerd controle systeem voor de robot gebeurt aan het [Redacted].

Zeepaarden, zeenaalden en sepia bewegen zich voort door middel van een undulerende vin. Deze vin zit vast aan een (bijna) star lichaam. Hierdoor zijn deze dieren uitstekende manoeuvreerders en zeer stabiele zwimmers bij lage snelheden. Het onderzoek zal bestaan uit het vastleggen, verwerken en analyseren van locomotie data, vin- en lichaamskinematica en stromingspatronen rond zeepaarden, zeenaalden en sepia. Locomotie en vin- en lichaamskinematica data zal verkregen worden d.m.v. beeldanalyse en verwerking van high speed camerabeelden. Stromingsdata rond de vin en lichaam van bovengenoemde dieren zal verkregen worden d.m.v. particle image velocimetry (PIV).

Breder en Edgerton (1942) rapporteerden als eersten over bepaalde kinematische eigenschappen van vinnen van zeepaarden onderzocht met hogesnelheidsbeelden. Blake (1976) onderzocht de vinkinematica eveneens met hoge snelheids camera beelden. Ashley-Ross (2002) bepaalde de flapfrequentie van de vinnen van zeepaarden en zeenaalden en deed een onderzoek naar de mechanische eigenschappen van de vinnen.

Met dit onderzoek willen wij een antwoord verkrijgen op volgende concrete vragen:

1. Hoe en waarom veranderen vinkinematica configuraties (amplitude, frequentie en golfgetal) onder invloed van:
 - a. Verschillende continue zwemsnelheden en richtingen (voorwaarts, achterwaarts, naar boven en beneden)
 - b. Ter plaatse blijven hangen in het water (hovering)
 - c. Verschillende manoeuvres bv: rollen, gieren, stampen, snelle start- en stopmanoeuvres. Rollen is draaien rond de longitudinale as, stampen rond de laterale as en gieren rond de top as.
2. Wat is de 3D krachten verhouding bij bepaalde vinkinematica configuraties? Door middel van de visualisatie van 3D vinkinematica kan een afchatting gemaakt worden wat een efficiënte voortstuwing is met betrekking tot een zeer specifiek manoeuvre en waarom.
3. Bestaat er een relatie tussen het gebruik van specifieke vinkinematica en daarmee corresponderende bewegingen met betrekking op gedragsaspecten en omgevingsfactoren bv. jager - prooirelatie, bewegen en leven in moeilijk toegankelijke gebieden?
4. Zijn er andere eigenschappen van de vinnen (elasticiteit van het vinmateriaal, buiging van de vinstralen) die een belangrijke rol spelen bij het zwemmen en manoeuvreren van deze dieren? Zo ja, in welke mate en waarom zijn deze eigenschappen belangrijk?
5. Heeft de aanhechting van een undulerende vin aan een star lichaam een hydrodynamisch voordeel tegenover een dier dat met zijn volledige lichaam unduleert? Zo ja, welke?

Deze aanvraag richt zich enkel op proeven met betrekking tot deelvraag 1 & 2. Voor de andere deelvragen zal een aparte DEC aanvraag geschreven worden.

Het uiteindelijk doel op wetenschappelijk niveau is fundamenteel inzicht krijgen in de werking van de voortstuwing en manoeuvreerbaarheid door undulerende vinnen aan een star lichaam. Deze vorm van locomotie wordt gebruikt door zeepaarden, zeenaalden en sepiä. Door een inzicht te verwerven in de relatie tussen de vinkinematica en bepaalde manoeuvres (stabiel zwemmen op lage snelheden, zowel voorwaarts als achterwaarts, hovering, snelle start- en stopmanoeuvres, snel draaien: gieren, stampen en rollen) zal men beter begrijpen waarom zeepaarden, zeenaalden en sepiä in zeer dicht beplante en moeilijk toegankelijke gebieden kunnen leven. Deze proeven zullen ook bijdragen aan kennis in andere vakgebieden dan de biologie, waaronder stromingsleer en hydrodynamica. Op een breder niveau zullen deze proeven bijdragen tot een verbeterde kennis van de fysiologie, gedrag en ecologie van zeepaarden, zeenaalden en sepiä.

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

Voorafgaand aan deze proeven is er een biomimetische onderwaterrobot gebouwd aan de [REDACTED] door een studententeam waarin de aanvrager het voorstuwingsdeel ontworpen en ontwikkeld heeft. Deze robot beweegt zich voort door middel van twee laterale undulerende vinnen, Simons et al. (2009). Verder zijn er twee mastertheses geschreven met een nieuwe test setup om de voortstuwing en stroming rond een undulerende vin aan een vast lichaam in kaart te brengen (Henrion 2010, Vercruyssen 2010). De nauwkeurigheid van seismische metingen en andere omgevings afhankelijke metingen in moeilijk bereikbare gebieden vragen een optimaal bestuurbare, efficiënte en multifunctionele robot. De kennis uit de proeven zal gebruikt worden om de robot de gewenste kinematische eigenschappen te geven. Hiermee zal de controleerbaarheid, stabiliteit en manoeuvreerbaarheid van de volledige robot verbeterd worden. Het eindproduct zal gebruikt worden voor onderwater inspectie en controlerende taken,

kwaleitsmetingen in verschillende onderwatergebieden, hulp voor duikers bij verschillende werkzaamheden, seismische metingen in ontoegankelijke gebieden, etc. Verschillende bedrijven en instituten o.a. [REDACTED] hebben al interesse laten blijken in het uiteindelijke eindproduct. Het uiteindelijke eindproduct zal het eerste product in zijn soort zijn in Europa.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 01-03-2011 tot 29-02-2012

3. Specificatie diergroepen:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	10	vissen *)	zie specificatie	onder
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	10	vissen *)	zie specificatie	onder
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	10	vissen *)	zie specificatie	onder

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus),
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae),
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.)).

De juiste onderfamilies van deze dieren kunnen op dit moment nog niet bepaald worden aangezien deze van een aantal factoren afhankelijk zijn:

" De mate van patronen op de huid van de dieren. De dieren zullen bij de groothandel geselecteerd worden op de herkenbaarheid van de patronen die ze op hun lichaam hebben om de vin kinematica met behulp van tracking methodes af te leiden. Dit kan individueel binnen een onderfamilie zeer sterk variëren.

" Gezondheid van de dieren. De dieren zullen geselecteerd worden op tekenen van levendigheid en gezondheid in de groothandel. Dieren die gebreken vertonen worden niet gekocht.

" Grootte van de vinnen. Om een vergelijkende studie te kunnen doen tussen de verschillende diersoorten moet aan enkele wetmatigheden van de vloeistofmechanica voldaan worden (bv. zelfde orde Reynoldsnummer). Hierbij speelt de lengte van de vin, flapfrequentie en amplitude een rol, alsook de zwemsnelheid. Vooral de vinlengte is afhankelijk van de leeftijd van de dieren.

" Beschikbaarheid. Zeepaarden, zeenaalden en Sepia zijn niet verkrijgbaar op elk moment. De diversiteit is ook niet altijd even groot in de groothandel. Er zal dus op de voet gevolgd worden waar en wanneer welke soort aanwezig is en of deze geschikt is voor de proeven.

Voor de leeftijdscategorieën kan volgende indeling aangehouden worden:

Zeepaarden: adult

Zeenaalden: adult

Sepia: hatchling - juvenile, i.e. mantellengte tussen 5 - 10 cm, Oestmann et al (1997).

De zeepaarden en zeenaalden zullen gekocht worden in de volwassen fase. De Sepia zullen aangekocht worden in de hatchling fase zodat ze in hun ontwikkeling kunnen wennen aan de omgevingsfactoren van het aquarium waarin ze zullen gehouden worden. Dit maakt de dieren beter bestand tegen stress en vergroot hun kans op een langer leven, Oestmann et al (1997).

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

Deze dieren zijn gekozen om hun unieke lichaamsbouw en voortbeweging zoals reeds aangegeven in paragraaf 1. De robot wordt gekenmerkt door een star lichaam met laterale undulerende vinnen. Zeepaarden, zeenaalden en zeekatten hebben een bijna star lichaam met daaraan een of meerdere vinnen gehecht. Het grootste deel van de voorstuwing van het zeepaard gebeurt met de dorsale vin. De dieren zijn relatief klein wat het faciliteren, trainen en experimenteren in relatief kleine omgevingen

mogelijk maakt zodat dit in het [REDACTED] kan gebeuren. De bovengenoemde dieren zijn bovendien trainbaar, wat nodig is om nauwkeurige en diverse experimenten mee te doen (Roos et al. (2009), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008), Komak et al. (2005)). De dieren zullen voornamelijk gehaald worden bij [REDACTED] waar ze al gewend zijn aan beweging, voederen en mensen.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Een poweranalyse kan niet worden uitgevoerd aangezien geen voorgaande data beschikbaar zijn om deze analyse goed uit te kunnen voeren. We gaan ervan uit dat met een zelfde dier meerdere zwemexperimenten kunnen uitgevoerd worden. Aangezien er onderlinge verschillen zullen zijn tussen dieren is een aantal van 10 dieren genoeg om statistisch afdoende en publiceerbare resultaten mee te verkrijgen, ook als de spreiding aanzienlijk is. Dit verwachten we omdat de proeven slechts beperkt controleerbaar zijn aangezien de dieren vrij mogen/moeten zwemmen. We houden ook rekening met een mogelijke uitval van 20% door sterfte. Indien er sterfgevallen zijn zullen deze dieren gebruikt worden als model voor weerstandsmetingen.

4.d. Herkomst:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in
Nederland	
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in
Nederland	
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in
Nederland	

Toelichting:

De dieren zullen gekocht worden bij [REDACTED]. Indien de dieren niet voorradig zijn bij deze groothandel dan zullen ze elders aangeschaft worden. Dit hangt af van welke dieren waar en wanneer voorradig zijn. Dit zal gebeuren in overleg met proefdierdeskundige [REDACTED] en biotechnicus [REDACTED].

5.a. Accommodatie: Elders

De zeepaardjes en zeenaalden zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend water op een constante temperatuur van 24 graden Celsius en een constante zoutconcentratie van 35 p.p.t of zeewater (Roos et al. 2009, Ashley-Ross 2002). De Sepia zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend zeewater op een temperatuur van 18 graden Celsius, Jozet-Alves et al. (2008). Beide aquaria worden uitgerust met een filter systeem bestaande uit: 5 kg levend steen, een eiwitafschuimer, actieve kool en UV filtering. De temperatuurvoorziening bestaat uit een TECO TC-15 + pomp Eheim 1000 om de temperatuur in beide aquaria constant te houden. Boven de twee aquaria zal een Philips Daylight Sono - 6000 K, 90 cm T8 gehangen worden om het juiste licht te voorzien. Voor de zeepaarden zal er in het aquarium bepaalde ankerpunten worden voorzien in de vorm van kunststof horrengaas of kunststof planten. Voor Sepia zullen schuilplaatsen voorzien worden. Er zal een voorraad bak van 250 l zeewater voorzien worden voor verversing of overplaatsing van dieren. Deze bak zal voorzien zijn van een luchtpompje + heater. Om de waterkwaliteit te reguleren worden de ammonia, nitriet, nitraat, pH en zoutconcentratie regelmatig gemeten om aan de nodige vereisten te voldoen, Oestmann et al (1997).

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De zeepaardjes en zeenaalden zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend water op een constante temperatuur van 24 graden Celsius en een constante zoutheidsgraad van 35 p.p.t of zeewater (Roos et al. 2009, Ashley-Ross 2002). De sepia zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend zeewater op een temperatuur van 18 graden Celsius, Jozet-Alves et al. (2008). Beide aquaria worden uitgerust met een filter systeem bestaande uit: 5 kg levend steen, een eiwitafschuimer, actieve kool en een UV filtering. De temperatuurvoorziening bestaat uit een TECO TC-15 + pomp Eheim 1000 om de temperatuur in beide aquaria constant te houden. Boven de twee aquaria zal een Philips Daylight Sono - 6000 K, 90 cm T8 gehangen worden om het juiste licht te voorzien. Voor de zeepaarden zal er in het aquarium bepaalde ankerpunten worden voorzien in de vorm van kunststof horrengaas of

kunststof planten. Voor de sepia zullen schuilplaatsen voorzien worden. Er zal een voorraad bak van 250 l zeewater voorzien worden voor verversing of overplaatsing van dieren. Deze bak zal voorzien zijn van een luchtpompje + heater. Om de waterkwaliteit te reguleren worden de ammonia, nitriet, nitraat, pH en zoutconcentratie regelmatig gemeten om aan de nodige vereisten te voldoen, Oestmann et al (1997).

5.c. Voeding:

De zeepaardjes en zeenaalden zullen meerdere keren per dag (minimaal twee) gevoerd worden met *Neomysis vulgaris*, Roos et al. (2009) of *Mysis* en *Artemia*. Er zal getracht worden om de dieren te laten wennen aan dood, ingevroren voedsel. Dit heeft als voordeel dat er geen eigen kweekprogramma voor levende *Mysis* of *Artemia* opgezet moet worden, wat zeer arbeidsintensief is en geen onderdeel van het onderzoek. De Sepia zullen eenmaal per dag gevoederd worden met garnalen (*Crangon crangon*) of krabben (*Carcinus maenas*) (Oestmann et al (1997), Jozet-Alves et al. (2008)).

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Aankomst

Alle dieren zullen na hun aankomst 1 tot 2 weken in een aquarium worden gehouden om aan de omstandigheden te wennen, (Alves et al. (2007), Oestmann et al (1997)).

Training

De dieren zullen overgeplaatst worden van hun aquarium waarin ze leven naar een speciaal aquarium dat voldoet aan de eisen van het experiment. Deze eisen zijn afhankelijk van het beoogde doel van de meting en zullen in hoofdzaak de afmetingen van de aquaria beïnvloeden (bv. als voorwaarts zwemmen onderzocht wordt, zal een lang smal aquarium gebruikt worden.) Indien de te onderzoeken bewegingen niet spontaan gebeuren, zullen de dieren getraind worden. Dit is noodzakelijk aangezien de dieren door een zekere meetsectie moeten bewegen om het maken van gedetailleerde high speed beelden mogelijk te maken. De camera's kunnen niet simultaan verplaatst worden met de beweging van het dier. Het trainen van de zeenaalden en zeepaardjes zal gebeuren door hen voedsel te geven op bepaalde plaatsen in het test aquarium, Roos et al. (2009). Op deze manieren kunnen bewegingen uitgelokt worden, zoals van A naar B zwemmen, zowel voorwaarts als naar onder of boven. De vinkinematica bij draaibewegingen kan opgenomen worden door de dieren voedsel aan te bieden op een plaats waarvoor ze een draaibeweging moeten maken. Sepia kunnen op diverse manieren getraind worden. Een eerste techniek is hen laten reageren op lokale verstoringen in het water tijdens de onvolwassen fase, Komak et al. (2005). Sepia kunnen ook getraind worden op plaats herkenning of repetitieve reacties op visuele stimuli (Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)). Zo kunnen we de sepia van een locatie A naar een locatie B laten gaan.

Experiment

In de eerste plaats gaan we gebruik maken van de spontane beweging van de dieren om onze meetdata te verkrijgen. Indien de vooropgestelde bewegingen niet door spontaan zwemmen gegenereerd worden, zullen we terugvallen op getrainde bewegingen zoals hierboven beschreven. Het experiment bestaat uit volgende onderdelen:

1. Algemene locomotie data: snelheden en acceleraties kunnen afgeleid worden uit high speed camerabeelden over het afgelegde pad. Hieruit kan een netto kracht afgeleid worden.
2. 3D vin kinematica vastleggen door middel van high speed camerabeelden bij verschillende manoeuvres: voorwaarts zwemmen, stijgen, dalen, start- en stopmanoeuvres, verschillende draaibewegingen (rollen, gieren en stampen) en hovering. Rollen is draaien rond de longitudinale as, stampen rond de laterale as en gieren rond de top as.

6.b. Mate van ongerief:

zeepaard (<i>Syngnathidea</i> - <i>Hippocampus</i>)	A. Gering
zeenaald (<i>Syngnathidea</i> - <i>Syngnathinae</i>)	A. Gering

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

Bij het vervoer van [REDACTED] naar de aquaria van [REDACTED] wordt hooguit gering ongerief verwacht. [REDACTED] is gespecialiseerd in het vervoer van vissen naar zoos in Europa. We verwachten geen ongerief tijdens de houderij van de dieren. Sepia zijn over het algemeen stressgevoelige dieren. Aangezien de sepia bij [REDACTED] gekweekt zijn zullen deze dieren minder stressgevoelig zijn omdat ze opgegroeid zijn in een aquarium in een groothandel. De proeven worden zo opgebouwd zodat stress en ongerief zoveel mogelijk worden vermeden en de dieren geleidelijk aan de experimentele omstandigheden kunnen wennen. Het ongerief bij de locomotieexperimenten is gering aangezien het vrij bewegen van de dieren zal bekeken worden. De stress van de dieren door training wordt mogelijk enigszins verhoogd omdat er bij extra licht getraind zal worden. De training op zich zal geen extra stress leveren aangezien het maken van een bepaalde beweging een keuze van het dier zelf is en hoogstens uitgelokt kan worden. Zeepaarden en zeenaalden zijn redelijk goed tegen bestand tegen extra licht, echter bij Sepia kan er meer stress opgewekt worden. Hierop zal snel worden ingespeeld door gedragswaarnemingen. Ook het verplaatsen van dieren van hun leef aquarium naar het testaquarium kan een zekere stress opleveren. Dit zal beperkt worden door telkens een ander exemplaar voor een test te gebruiken zodat niet enkelingen meer stress hebben dan anderen. Het nemen van hoge snelheidsbeelden voor de 3D vinkinematica zal gestart worden nadat de dieren gewend zijn aan mensen en de omgeving, waardoor de stress zal afnemen. Ook zal de algemene gezondheid van de dieren nauwlettend in het oog gehouden worden.

Vervoer:

Gering ongerief: [REDACTED] is gespecialiseerd in het vervoer van vissen naar verschillende zoos in Europa. Lichte stress kan aanwezig zijn bij de sepia.

Houderij:

Geen ongerief: De dieren zullen in een natuurlijk habitat gehouden worden zoals in paragraaf 5 aangegeven.

Training:

" Voorwaarts zwemmen: Geen ongerief

Dit doen de dieren in hun natuurlijke omgeving ook.

" Hovering: Geen ongerief

Dit doen de dieren in hun natuurlijke omgeving ook.

" Bewegingen: Geen ongerief

Hun hoge mate van manoeuvreerbaarheid is juist de reden voor selectie. Een bepaalde beweging kan uitgelokt worden m.b.v. voedsel aan te bieden, echter de keuze om een beweging te maken ligt bij het dier zelf. Verhoogde stress bij Sepia is nog niet gerapporteerd in voorgaande studies met getrainde sepia (Komak et al. (2005), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)).

" Invloed van extra licht: Gering ongerief

Er kan een zekere stress ontstaan bij het zwemmen van de dieren onder omstandigheden met extra licht. Er zal een stapsgewijze gewenning aan extra licht worden doorgevoerd. Er zal extra aandacht besteed worden bij het plaatsen van extra licht bij experimenten met de sepia aangezien zij meestal in donkere

plaatsen leven.

Experiment

" Bewegingen: Geen ongerief

Hun hoge mate van manoeuvreerbaarheid is juist de reden voor selectie. Een bepaalde beweging kan uitgelokt worden m.b.v. voedsel aan te bieden, echter de keuze om een beweging te doen ligt bij het dier zelf. Verhoogde stress bij sepia is nog niet gerapporteerd in voorgaande studies met getrainde sepia (Komak et al. (2005), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)).

" Invloed van speciale lichten en camera's: Gering ongerief

Er kan een zekere stress ontstaan bij het zwemmen van de dieren onder omstandigheden met extra licht. Er zal een stapsgewijze gewenning aan extra licht worden doorgevoerd. Er zal extra aandacht besteed worden bij het plaatsen van extra licht bij experimenten met de sepia aangezien zij meestal in donkere plaatsen leven.

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

Anesthesie:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen
aanleiding bestaat.	
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen
aanleiding bestaat.	
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen
aanleiding bestaat.	

De belangrijkste maatregel die genomen is om het ongerief tot een minimum te beperken is om dieren te kiezen die van nature de bewegingen maken die wij willen onderzoeken. Hierdoor is het ongerief door het opleggen van bepaalde zwemregimes en bewegingen minimaal. De dieren zijn gekozen omdat ze zeer goede manoeuvreerbaarheid vertonen en redelijk goed trainbaar zijn.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	Het dier is na de proef in leven gelaten.
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	Het dier is na de proef in leven gelaten.
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	Het dier is na de proef in leven gelaten.

Toelichting:

Indien het dier niet overgedragen kan worden aan de proefdieraccommodatie voor onderwijsdoeleinden of andere doeleinden zal het dier gedood worden na het einde van de proef. De zeepaarden en zeenaalden worden gedood door een overdosis tricaine methane sulfonate (MS-222; 5 g/l) in zeewater. De Sepia worden gedood door een snelle koeling in ijskoud zeewater met een 10% oplossing van magnesium chloride in zeewater, Oestmann et al (1997).

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

Vervanging:

Het bestuderen van de locomotie van zeepaarden, zeenaalden en sepia is niet mogelijk in aquaria waar de dieren verblijven, noch in een groothandel of in een zoo. De omstandigheden in deze aquaria,

(hoeveelheid licht, grootte aquaria, omgevingsfactoren zoals luchtvochtigheid, warmte, etc.) zijn niet optimaal om de beoogde proef in uit te voeren.

Een op de natuur geïnspireerde onderwaterrobot die het zwemgedrag van zeepaarden, zeenaalden of sepia benadert is momenteel geen alternatief voor dierproeven aangezien die er nog niet is. De reden hiervoor is dat ze eerst uitontwikkeld, getest en gevalideerd moeten worden met de data die we met deze proeven willen verkrijgen.

Echter, het vernieuwende onderzoek dat met onze opstelling gedaan kan worden en fundamentele inzichten die het zal opleveren, kunnen gebruikt worden om numerieke simulaties en robotvissen te verbeteren waardoor deze waardevoller worden en op termijn een alternatief kunnen zijn voor een aantal dierproeven.

Verfijning:

Indien de dieren te veel last ondervinden van het licht zal er geprobeerd worden met minder licht te werken. Als de op maat gemaakte testaquaria voor te veel stress zorgen bij de dieren zal getracht worden in grotere aquaria te testen. Dit heeft als consequentie dat het maken van de beoogde hogesnelheidsbeelden veel lastiger wordt aangezien de meetsectie wordt vergroot. Bij de keuze van de camera's wordt echter extra aandacht besteed aan de lichtgevoeligheid van de sensor zodat met minder extra licht kan gewerkt worden.

Vermindering:

Het aantal dieren nodig voor de proef hangt heel sterk af van de mate waarin goede data kunnen verkregen worden van de dieren. Dieren die minder stressgevoelig en zeer beweeglijk zijn zullen waarschijnlijk gemakkelijker proefdieren zijn dan stressgevoeligere dieren. Om niet een paar dieren te overbelasten en de stress te minimaliseren is het noodzakelijk meerdere dieren te houden zodat de zwemprouwen niet steeds met dezelfde dieren binnen een onderfamilie moeten gehouden worden. Een aantal van tien dieren per soort, waarin bepaalde dieren beter zullen presteren dan andere, is genoeg om publiceerbare resultaten mee te behalen. De verschillende prestaties van verschillende dieren van dezelfde onderfamilie kunnen hierdoor vergeleken worden.

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

Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2011027.a (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					37	2	1	01					
zeepaard (<i>Syngnathidea</i> - <i>Hippocampus</i>)	1	89	1	10						01	1	1	3
zeenaald (<i>Syngnathidea</i> - <i>Syngnathinae</i>)	1	89	1	10						01	1	1	3
zeekat (<i>Sepiidea</i> - <i>Sepia officinalis</i> (juv.))	1	89	1	10						01	1	1	3

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC



Aanvrager:
Afdeling:



Titel dierproef: Vin- en lichaamskinematica en stromingsonderzoek continu zwemmen, hovering en manoeuvreerbaarheid van zeepaard, zeenaald en sepia

Aanmeldcode / Protocol: 2011027.b

Stadia van de proef:

13-02-2011	Aangemeld	
14-02-2011	Positief advies na behandeling KC	
20-07-2011	Gekopieerd	
26-07-2011	Wijzigen	
08-08-2011	Gekopieerd	

Secretaris van de DEC

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

De proef is wetenschappelijk waardevol bevonden door [redacted] en [redacted], allebei verbonden als onderzoeker aan [redacted] en experts op het gebied van zwemgedrag van vissen. De vraagstelling is tot stand gekomen op basis van een literatuurstudie van [redacted] met betrekking tot zijn promotie.

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t. wetensch. vraag

Het hoofddoel van dit onderzoek is tweeledig:

- 1) een beter inzicht verkrijgen in propulsie en manoeuvreerbaarheid door middel van undulerende vinnen.
- 2) de ontwikkeling van een stabiel en manoeuvreerbaar biomimetisch onderwater meetplatform bij lage snelheden.

Het sensor platform zal gebruikt worden voor seismische metingen, inspecties en als hulp bij andere onderwater taken. Het voortstuwingsonderdeel van deze robot bestaat uit meerdere undulerende vinnen. Dit onderzoek loopt in twee parallelle lijnen. Het biologische aspect van het onderzoek vindt plaats aan het [redacted]. Het ontwerp van een geïntegreerd controle systeem voor de robot gebeurt aan het [redacted].

Zeepaarden, zeenaalden en sepia bewegen zich voort door middel van een undulerende vin. Deze vin zit vast aan een (bijna) star lichaam. Hierdoor zijn deze dieren uitstekende manoeuvreerders en zeer stabiele zwimmers bij lage snelheden. Het onderzoek zal bestaan uit het vastleggen, verwerken en analyseren van locomotie data, vin- en lichaamskinematica en stromingspatronen rond zeepaarden, zeenaalden en sepia. Locomotie en vin- en lichaamskinematica data zal verkregen worden d.m.v. beeldanalyse en verwerking van high speed camerabeelden. Stromingsdata rond de vin en lichaam van bovengenoemde dieren zal verkregen worden d.m.v. particle image velocimetry (PIV).

Breder en Edgerton (1942) rapporteerden als eersten over bepaalde kinematische eigenschappen van vinnen van zeepaarden onderzocht met hogesnelheidsbeelden. Blake (1976) onderzocht de vinkinematica eveneens met hoge snelheids camera beelden. Ashley-Ross (2002) bepaalde de flapfrequentie van de vinnen van zeepaarden en zeenaalden en deed een onderzoek naar de mechanische eigenschappen van de vinnen.

Met dit onderzoek willen wij een antwoord verkrijgen op volgende concrete vragen:

1. Hoe en waarom veranderen vinkinematica configuraties (amplitude, frequentie en golfgetal) onder invloed van:
 - a. Verschillende continue zwemsnelheden en richtingen (voorwaarts, achterwaarts, naar boven en beneden)
 - b. Ter plaatse blijven hangen in het water (hovering)
 - c. Verschillende manoeuvres bv: rollen, gieren, stampen, snelle start- en stopmanoeuvres.Rollen is draaien rond de longitudinale as, stampen rond de laterale as en gieren rond de top as.
2. Wat is de 3D krachten verhouding bij bepaalde vinkinematica configuraties? Door middel van de visualisatie van 3D vinkinematica kan een afschatting gemaakt worden wat een efficiënte voortstuwing is met betrekking tot een zeer specifiek manoeuvre en waarom.
3. Bestaat er een relatie tussen het gebruik van specifieke vinkinematica en daarmee corresponderende bewegingen met betrekking op gedragsaspecten en omgevingsfactoren bv. jager - prooirelatie, bewegen en leven in moeilijk toegankelijke gebieden?
4. Zijn er andere eigenschappen van de vinnen (elasticiteit van het vinmateriaal, buiging van de vinstralen) die een belangrijke rol spelen bij het zwemmen en manoeuvreren van deze dieren? Zo ja, in welke mate en waarom zijn deze eigenschappen belangrijk?
5. Heeft de aanhechting van een undulerende vin aan een star lichaam een hydrodynamisch voordeel tegenover een dier dat met zijn volledige lichaam unduleert? Zo ja, welke?

Deze aanvraag richt zich enkel op proeven met betrekking tot deelvraag 1 & 2. Voor de andere deelvragen zal een aparte DEC aanvraag geschreven worden.

Het uiteindelijk doel op wetenschappelijk niveau is fundamenteel inzicht krijgen in de werking van de voortstuwing en manoeuvreerbaarheid door undulerende vinnen aan een star lichaam. Deze vorm van locomotie wordt gebruikt door zeepaarden, zeenaalden en sepia. Door een inzicht te verwerven in de relatie tussen de vinkinematica en bepaalde manoeuvres (stabiel zwemmen op lage snelheden, zowel voorwaarts als achterwaarts, hovering, snelle start- en stopmanoeuvres, snel draaien: gieren, stampen en rollen) zal men beter begrijpen waarom zeepaarden, zeenaalden en sepia in zeer dicht beplante en moeilijk toegankelijke gebieden kunnen leven. Deze proeven zullen ook bijdragen aan kennis in andere vakgebieden dan de biologie, waaronder stromingsleer en hydrodynamica. Op een breder niveau zullen deze proeven bijdragen tot een verbeterde kennis van de fysiologie, gedrag en ecologie van zeepaarden, zeenaalden en sepia.

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

Voorafgaand aan deze proeven is er een biomimetische onderwaterrobot gebouwd aan de [REDACTED] door een studententeam waarin de aanvrager het voorstuwingsdeel ontworpen en ontwikkeld heeft. Deze robot beweegt zich voort door middel van twee laterale undulerende vinnen, Simons et al. (2009). Verder zijn er twee mastertheses geschreven met een nieuwe test setup om de voortstuwing en stroming rond een undulerende vin aan een vast lichaam in kaart te brengen (Henrion 2010, Vercruyssen 2010). De nauwkeurigheid van seismische metingen en andere omgevings afhankelijke metingen in moeilijk bereikbare gebieden vragen een optimaal bestuurbare, efficiënte en multifunctionele robot. De kennis uit de proeven zal gebruikt worden om de robot de gewenste kinematische eigenschappen te geven. Hiermee zal de controleerbaarheid, stabiliteit en manoeuvreerbaarheid van de volledige robot verbeterd

worden. Het eindproduct zal gebruikt worden voor onderwater inspectie en controlerende taken, kwaliteitsmetingen in verschillende onderwatergebieden, hulp voor duikers bij verschillende werkzaamheden, seismische metingen in ontoegankelijke gebieden, etc. Verschillende bedrijven en instituten o.a. [REDACTED] hebben al interesse laten blijken in het uiteindelijke eindproduct. Het uiteindelijke eindproduct zal het eerste product in zijn soort zijn in Europa.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 01-03-2011 tot 29-02-2012

3. Specificatie diergroepen:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	10	vissen *)	zie specificatie	onder
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	10	vissen *)	zie specificatie	onder
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	10	vissen *)	zie specificatie	onder

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus),
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae),
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.)).

De juiste onderfamilies van deze dieren kunnen op dit moment nog niet bepaald worden aangezien deze van een aantal factoren afhankelijk zijn:

" De mate van patronen op de huid van de dieren. De dieren zullen bij de groothandel geselecteerd worden op de herkenbaarheid van de patronen die ze op hun lichaam hebben om de vin kinematica met behulp van tracking methodes af te leiden. Dit kan individueel binnen een onderfamilie zeer sterk variëren.

" Gezondheid van de dieren. De dieren zullen geselecteerd worden op tekenen van levendigheid en gezondheid in de groothandel. Dieren die gebreken vertonen worden niet gekocht.

" Grootte van de vinnen. Om een vergelijkende studie te kunnen doen tussen de verschillende diersoorten moet aan enkele wetmatigheden van de vloeistofmechanica voldaan worden (bv. zelfde orde Reynoldsnummer). Hierbij speelt de lengte van de vin, flapfrequentie en amplitude een rol, alsook de zwemsnelheid. Vooral de vinlengte is afhankelijk van de leeftijd van de dieren.

" Beschikbaarheid. Zeepaarden, zeenaalden en Sepia zijn niet verkrijgbaar op elk moment. De diversiteit is ook niet altijd even groot in de groothandel. Er zal dus op de voet gevolgd worden waar en wanneer welke soort aanwezig is en of deze geschikt is voor de proeven.

Voor de leeftijdscategorieën kan volgende indeling aangehouden worden:

Zeepaarden: adult

Zeenaalden: adult

Sepia: hatchling - juvenile, i.e. mantellengte tussen 5 - 10 cm, Oestmann et al (1997).

De zeepaarden en zeenaalden zullen gekocht worden in de volwassen fase. De Sepia zullen aangekocht worden in de hatchling fase zodat ze in hun ontwikkeling kunnen wennen aan de omgevingsfactoren van het aquarium waarin ze zullen gehouden worden. Dit maakt de dieren beter bestand tegen stress en vergroot hun kans op een langer leven, Oestmann et al (1997).

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

Deze dieren zijn gekozen om hun unieke lichaamsbouw en voortbeweging zoals reeds aangegeven in paragraaf 1. De robot wordt gekenmerkt door een star lichaam met laterale undulerende vinnen. Zeepaarden, zeenaalden en zeekatten hebben een bijna star lichaam met daaraan een of meerdere vinnen gehecht. Het grootste deel van de voorstuwing van het zeepaard gebeurt met de dorsale vin. De

dieren zijn relatief klein wat het faciliteren, trainen en experimenteren in relatief kleine omgevingen mogelijk maakt zodat dit in het [REDACTED] kan gebeuren. De bovengenoemde dieren zijn bovendien trainbaar, wat nodig is om nauwkeurige en diverse experimenten mee te doen (Roos et al. (2009), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008), Komak et al. (2005)). De dieren zullen voornamelijk gehaald worden bij [REDACTED] waar ze al gewend zijn aan beweging, voederen en mensen.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Een poweranalyse kan niet worden uitgevoerd aangezien geen voorgaande data beschikbaar zijn om deze analyse goed uit te kunnen voeren. We gaan ervan uit dat met een zelfde dier meerdere zwemexperimenten kunnen uitgevoerd worden. Aangezien er onderlinge verschillen zullen zijn tussen dieren is een aantal van 10 dieren genoeg om statistisch afdoende en publiceerbare resultaten mee te verkrijgen, ook als de spreiding aanzienlijk is. Dit verwachten we omdat de proeven slechts beperkt controleerbaar zijn aangezien de dieren vrij mogen/moeten zwemmen. We houden ook rekening met een mogelijke uitval van 20% door sterfte. Indien er sterfgevallen zijn zullen deze dieren gebruikt worden als model voor weerstandsmetingen.

4.d. Herkomst:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in
Nederland	
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in
Nederland	
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in
Nederland	

Toelichting:

De dieren zullen gekocht worden bij [REDACTED]. Indien de dieren niet voorradig zijn bij deze groothandel dan zullen ze elders aangeschaft worden. Dit hangt af van welke dieren waar en wanneer voorradig zijn. Dit zal gebeuren in overleg met proefdierdeskundige [REDACTED] en biotechnicus [REDACTED].

5.a. Accommodatie: Elders

De zeepaardjes en zeenaalden zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend water op een constante temperatuur van 24 graden Celsius en een constante zoutconcentratie van 35 p.p.t of zeewater (Roos et al. 2009, Ashley-Ross 2002). De Sepia zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend zeewater op een temperatuur van 18 graden Celsius, Jozet-Alves et al. (2008). Beide aquaria worden uitgerust met een filter systeem bestaande uit: 5 kg levend steen, een eiwitafschuimer, actieve kool en UV filtering. De temperatuurvoorziening bestaat uit een TECO TC-15 + pomp Eheim 1000 om de temperatuur in beide aquaria constant te houden. Boven de twee aquaria zal een Philips Daylight Sono - 6000 K, 90 cm T8 gehangen worden om het juiste licht te voorzien. Voor de zeepaarden zal er in het aquarium bepaalde ankerpunten worden voorzien in de vorm van kunststof horrengaas of kunststof planten. Voor Sepia zullen schuilplaatsen voorzien worden. Er zal een voorraad bak van 250 l zeewater voorzien worden voor verversing of overplaatsing van dieren. Deze bak zal voorzien zijn van een luchtpompje + heater. Om de waterkwaliteit te reguleren worden de ammonia, nitriet, nitraat, pH en zoutconcentratie regelmatig gemeten om aan de nodige vereisten te voldoen, Oestmann et al (1997).

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De zeepaardjes en zeenaalden zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend water op een constante temperatuur van 24 graden Celsius en een constante zoutheidsgraad van 35 p.p.t of zeewater (Roos et al. 2009, Ashley-Ross 2002). De sepia zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend zeewater op een temperatuur van 18 graden Celsius, Jozet-Alves et al. (2008). Beide aquaria worden uitgerust met een filter systeem bestaande uit: 5 kg levend steen, een eiwitafschuimer, actieve kool en een UV filtering. De temperatuurvoorziening bestaat uit een TECO TC-15 + pomp Eheim 1000 om de temperatuur in beide aquaria constant te houden. Boven de twee aquaria zal een Philips Daylight Sono - 6000 K, 90 cm T8 gehangen worden om het juiste licht te voorzien. Voor de zeepaarden

zal er in het aquarium bepaalde ankerpunten worden voorzien in de vorm van kunststof horrengaas of kunststof planten. Voor de sepia zullen schuilplaatsen voorzien worden. Er zal een voorraad bak van 250 l zeewater voorzien worden voor verversing of overplaatsing van dieren. Deze bak zal voorzien zijn van een luchtpompje + heater. Om de waterkwaliteit te reguleren worden de ammonia, nitriet, nitraat, pH en zoutconcentratie regelmatig gemeten om aan de nodige vereisten te voldoen, Oestmann et al (1997).

5.c. Voeding:

De zeepaardjes en zeenaalden zullen meerdere keren per dag (minimaal twee) gevoerd worden met *Neomysis vulgaris*, Roos et al. (2009) of *Mysis* en *Artemia*. Er zal getracht worden om de dieren te laten wennen aan dood, ingevroren voedsel. Dit heeft als voordeel dat er geen eigen kweekprogramma voor levende *Mysis* of *Artemia* opgezet moet worden, wat zeer arbeidsintensief is en geen onderdeel van het onderzoek. De *Sepia* zullen eenmaal per dag gevoederd worden met garnalen (*Crangon crangon*) of krabben (*Carcinus maenas*) (Oestmann et al (1997), Jozet-Alves et al. (2008)).

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Aankomst

Alle dieren zullen na hun aankomst 3 weken in een aquarium worden gehouden om aan de omstandigheden te wennen, hetgeen langer is dan toegepast door Alves et al. (2007) en Oestmann et al (1997).

Training

De dieren zullen overgeplaatst worden van hun aquarium waarin ze leven naar een speciaal aquarium dat voldoet aan de eisen van het experiment. Deze eisen zijn afhankelijk van het beoogde doel van de meting en zullen in hoofdzaak de afmetingen van de aquaria beïnvloeden (bv. als voorwaarts zwemmen onderzocht wordt, zal een lang smal aquarium gebruikt worden.) Indien de te onderzoeken bewegingen niet spontaan gebeuren, zullen de dieren getraind worden. Dit is noodzakelijk aangezien de dieren door een zekere meetsectie moeten bewegen om het maken van gedetailleerde high speed beelden mogelijk te maken. De camera's kunnen niet simultaan verplaatst worden met de beweging van het dier. Het trainen van de zeenaalden en zeepaardjes zal gebeuren door hen voedsel te geven op bepaalde plaatsen in het test aquarium, Roos et al. (2009). Op deze manieren kunnen bewegingen uitgelokt worden, zoals van A naar B zwemmen, zowel voorwaarts als naar onder of boven. De vinkinematica bij draaibewegingen kan opgenomen worden door de dieren voedsel aan te bieden op een plaats waarvoor ze een draaibeweging moeten maken. *Sepia* kunnen op diverse manieren getraind worden. Een eerste techniek is hen laten reageren op lokale verstoringen in het water tijdens de onvolwassen fase, Komak et al. (2005). *Sepia* kunnen ook getraind worden op plaats herkenning of repetitieve reacties op visuele stimuli (Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)). Zo kunnen we de sepia van een locatie A naar een locatie B laten gaan.

Experiment

In de eerste plaats gaan we gebruik maken van de spontane beweging van de dieren om onze meetdata te verkrijgen. Indien de vooropgestelde bewegingen niet door spontaan zwemmen gegenereerd worden, zullen we terugvallen op getrainde bewegingen zoals hierboven beschreven. Het experiment bestaat uit volgende onderdelen:

1. Algemene locomotie data: snelheden en acceleraties kunnen afgeleid worden uit high speed camerabeelden over het afgelegde pad. Hieruit kan een netto kracht afgeleid worden.
2. 3D vin kinematica vastleggen door middel van high speed camerabeelden bij verschillende manoeuvres: voorwaarts zwemmen, stijgen, dalen, start- en stopmanoeuvres, verschillende draaibewegingen (rollen, gieren en stampen) en hovering. Rollen is draaien rond de longitudinale as, stampen rond de laterale as en gieren rond de top as.

6.b. Mate van ongerief:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	A. Gering
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	A. Gering
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	A. Gering

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

Bij het vervoer van [REDACTED] naar de aquaria van [REDACTED] wordt hooguit gering ongerief verwacht. [REDACTED] is gespecialiseerd in het vervoer van vissen naar zoos in Europa. We verwachten geen ongerief tijdens de houderij van de dieren. Sepia zijn over het algemeen stressgevoelige dieren. Aangezien de sepia bij [REDACTED] gekweekt zijn zullen deze dieren minder stressgevoelig zijn omdat ze opgegroeid zijn in een aquarium in een groothandel. De proeven worden zo opgebouwd zodat stress en ongerief zoveel mogelijk worden vermeden en de dieren geleidelijk aan de experimentele omstandigheden kunnen wennen. Het ongerief bij de locomotieexperimenten is gering aangezien het vrij bewegen van de dieren zal bekeken worden. De stress van de dieren door training wordt mogelijk enigszins verhoogd omdat er bij extra licht getraind zal worden. De training op zich zal geen extra stress leveren aangezien het maken van een bepaalde beweging een keuze van het dier zelf is en hoogstens uitgelokt kan worden. Zeepaarden en zeenaalden zijn redelijk goed tegen bestand tegen extra licht, echter bij Sepia kan er meer stress opgewekt worden. Hierop zal snel worden ingespeeld door gedragswaarnemingen. Ook het verplaatsen van dieren van hun leef aquarium naar het testaquarium kan een zekere stress opleveren. Dit zal beperkt worden door telkens een ander exemplaar voor een test te gebruiken zodat niet enkelingen meer stress hebben dan anderen. Het nemen van hoge snelheidsbeelden voor de 3D vinkinematica zal gestart worden nadat de dieren gewend zijn aan mensen en de omgeving, waardoor de stress zal afnemen. Ook zal de algemene gezondheid van de dieren nauwlettend in het oog gehouden worden.

Vervoer:

Gering ongerief: [REDACTED] is gespecialiseerd in het vervoer van vissen naar verschillende zoos in Europa. Lichte stress kan aanwezig zijn bij de sepia.

Houderij:

Geen ongerief: De dieren zullen in een natuurlijk habitat gehouden worden zoals in paragraaf 5 aangegeven.

Training:

" Voorwaarts zwemmen: Geen ongerief

Dit doen de dieren in hun natuurlijke omgeving ook.

" Hovering: Geen ongerief

Dit doen de dieren in hun natuurlijke omgeving ook.

" Bewegingen: Geen ongerief

Hun hoge mate van manoeuvreerbaarheid is juist de reden voor selectie. Een bepaalde beweging kan uitgelokt worden m.b.v. voedsel aan te bieden, echter de keuze om een beweging te maken ligt bij het dier zelf. Verhoogde stress bij Sepia is nog niet gerapporteerd in voorgaande studies met getrainde sepia (Komak et al. (2005), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)).

" Invloed van extra licht: Gering ongerief

Er kan een zekere stress ontstaan bij het zwemmen van de dieren onder omstandigheden met extra licht.

Er zal een stapsgewijze gewenning aan extra licht worden doorgevoerd. Er zal extra aandacht besteed worden bij het plaatsen van extra licht bij experimenten met de sepia aangezien zij meestal in donkere plaatsen leven.

Experiment

" Bewegingen: Geen ongerief

Hun hoge mate van manoeuvreerbaarheid is juist de reden voor selectie. Een bepaalde beweging kan uitgelokt worden m.b.v. voedsel aan te bieden, echter de keuze om een beweging te doen ligt bij het dier zelf. Verhoogde stress bij sepia is nog niet gerapporteerd in voorgaande studies met getrainde sepia (Komak et al. (2005), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)).

" Invloed van speciale lichten en camera's: Gering ongerief

Er kan een zekere stress ontstaan bij het zwemmen van de dieren onder omstandigheden met extra licht. Er zal een stapsgewijze gewenning aan extra licht worden doorgevoerd. Er zal extra aandacht besteed worden bij het plaatsen van extra licht bij experimenten met de sepia aangezien zij meestal in donkere plaatsen leven.

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

Anesthesie:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen
aanleiding bestaat.	
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen
aanleiding bestaat.	
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen
aanleiding bestaat.	

De belangrijkste maatregel die genomen is om het ongerief tot een minimum te beperken is om dieren te kiezen die van nature de bewegingen maken die wij willen onderzoeken. Hierdoor is het ongerief door het opleggen van bepaalde zwemregimes en bewegingen minimaal. De dieren zijn gekozen omdat ze zeer goede manoeuvreerbaarheid vertonen en redelijk goed trainbaar zijn.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	Het dier is na de proef in leven gelaten.
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	Het dier is na de proef in leven gelaten.
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	Het dier is na de proef in leven gelaten.

Toelichting:

Gezonde dieren zullen na de proef in hun leefaquaria gehouden worden voor hergebruik. Indien de proef ten einde is, zullen gezonde dieren overgedragen worden aan een dierentuin of vergelijkbare instelling. Indien onverhoopt het dier niet voor hergebruik of overdracht in aanmerking komt, zal het dier gedood worden na het einde van de proef en zal er anatomisch onderzoek plaatsvinden. De zeepaarden en zeenaalden worden gedood door een overdosis tricaine methane sulfonate (MS-222; 5 g/l) in zeewater. De Sepia worden gedood door een snelle koeling in ijskoud zeewater met een 10% oplossing van magnesium chloride in zeewater, Oestmann et al (1997). Er zal echter altijd getracht worden het maximale aantal dieren in leven te houden.

9. Welke alternatieven (vervanging, verfijning, vermindering) zijn voor de beschreven

experimenten overwogen en waarom zijn deze verworpen?

Vervanging:

Het bestuderen van de locomotie van zeepaarden, zeenaalden en sepia is niet mogelijk in aquaria waar de dieren verblijven, noch in een groothandel of in een zoo. De omstandigheden in deze aquaria, (hoeveelheid licht, grootte aquaria, omgevingsfactoren zoals luchtvochtigheid, warmte, etc.) zijn niet optimaal om de beoogde proef in uit te voeren.

Een op de natuur geïnspireerde onderwaterrobot die het zwemgedrag van zeepaarden, zeenaalden of sepia benadert is momenteel geen alternatief voor dierproeven aangezien die er nog niet is. De reden hiervoor is dat ze eerst uitontwikkeld, getest en gevalideerd moeten worden met de data die we met deze proeven willen verkrijgen.

Echter, het vernieuwende onderzoek dat met onze opstelling gedaan kan worden en fundamentele inzichten die het zal opleveren, kunnen gebruikt worden om numerieke simulaties en robotvissen te verbeteren waardoor deze waardevoller worden en op termijn een alternatief kunnen zijn voor een aantal dierproeven.

Verfijning:

Indien de dieren te veel last ondervinden van het licht zal er geprobeerd worden met minder licht te werken. Als de op maat gemaakte testaquaria voor te veel stress zorgen bij de dieren zal getracht worden in grotere aquaria te testen. Dit heeft als consequentie dat het maken van de beoogde hogesnelheidsbeelden veel lastiger wordt aangezien de meetsectie wordt vergroot. Bij de keuze van de camera's wordt echter extra aandacht besteed aan de lichtgevoeligheid van de sensor zodat met minder extra licht kan gewerkt worden.

Vermindering:

Het aantal dieren nodig voor de proef hangt heel sterk af van de mate waarin goede data kunnen verkregen worden van de dieren. Dieren die minder stressgevoelig en zeer beweeglijk zijn zullen waarschijnlijk gemakkelijker proefdieren zijn dan stressgevoeligere dieren. Om niet een paar dieren te overbelasten en de stress te minimaliseren is het noodzakelijk meerdere dieren te houden zodat de zwemproeven niet steeds met dezelfde dieren binnen een onderfamilie moeten gehouden worden. Een aantal van tien dieren per soort, waarin bepaalde dieren beter zullen presteren dan andere, is genoeg om publiceerbare resultaten mee te behalen. De verschillende prestaties van verschillende dieren van dezelfde onderfamilie kunnen hierdoor vergeleken worden.

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

[REDACTED]

Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2011027.b (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					37	2	1	01					
zeepaard (<i>Syngnathidea</i> - <i>Hippocampus</i>)	1	89	1	10						01	1	1	3
zeenaald (<i>Syngnathidea</i> - <i>Syngnathinae</i>)	1	89	1	10						01	1	1	3
zeekat (<i>Sepiidea</i> - <i>Sepia officinalis</i> (juv.))	1	89	1	10						01	1	1	3

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:
Afdeling:

Titel dierproef: Vin- en lichaamskinematica en stromingsonderzoek continu zwemmen, hovering en manoeuvreerbaarheid van zeepaard, zeenaald en sepia

Aanmeldcode / Protocol: 2011027.c

Stadia van de proef:

08-08-2011	Aangemeld		
08-08-2011	Positief advies na behandeling KC		Secretaris van de DEC
03-01-2012	Wijzigen		
04-01-2012	Gekopieerd		

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

De proef is wetenschappelijk waardevol bevonden door [redacted] en [redacted], allebei verbonden als onderzoeker aan [redacted] en experts op het gebied van zwemgedrag van vissen. De vraagstelling is tot stand gekomen op basis van een literatuurstudie van [redacted] met betrekking tot zijn promotie.

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t. wetensch. vraag

Het hoofddoel van dit onderzoek is tweeledig:

- 1) een beter inzicht verkrijgen in propulsie en manoeuvreerbaarheid door middel van undulerende vinnen.
- 2) de ontwikkeling van een stabiel en manoeuvreerbaar biomimetisch onderwater meetplatform bij lage snelheden.

Het sensor platform zal gebruikt worden voor seismische metingen, inspecties en als hulp bij andere onderwater taken. Het voortstuwingsonderdeel van deze robot bestaat uit meerdere undulerende vinnen. Dit onderzoek loopt in twee parallelle lijnen. Het biologische aspect van het onderzoek vindt plaats aan het [redacted]. Het ontwerp van een geïntegreerd controle systeem voor de robot gebeurt aan het [redacted].

Zeepaarden, zeenaalden en sepia bewegen zich voort door middel van een undulerende vin. Deze vin zit vast aan een (bijna) star lichaam. Hierdoor zijn deze dieren uitstekende manoeuvreerders en zeer stabiele zwimmers bij lage snelheden. Het onderzoek zal bestaan uit het vastleggen, verwerken en analyseren van locomotie data, vin- en lichaamskinematica en stromingspatronen rond zeepaarden, zeenaalden en sepia. Locomotie en vin- en lichaamskinematica data zal verkregen worden d.m.v. beeldanalyse en verwerking van high speed camerabeelden. Stromingsdata rond de vin en lichaam van bovengenoemde dieren zal verkregen worden d.m.v. particle image velocimetry (PIV).

Breder en Edgerton (1942) rapporteerden als eersten over bepaalde kinematische eigenschappen van vinnen van zeepaarden onderzocht met hogesnelheidsbeelden. Blake (1976) onderzocht de vinkinematica eveneens met hoge snelheids camera beelden. Ashley-Ross (2002) bepaalde de flapfrequentie van de vinnen van zeepaarden en zeenaalden en deed een onderzoek naar de mechanische eigenschappen van de vinnen.

Met dit onderzoek willen wij een antwoord verkrijgen op volgende concrete vragen:

1. Hoe en waarom veranderen vinkinematica configuraties (amplitude, frequentie en golfgetal) onder invloed van:
 - a. Verschillende continue zwemsnelheden en richtingen (voorwaarts, achterwaarts, naar boven en beneden)
 - b. Ter plaatse blijven hangen in het water (hovering)
 - c. Verschillende manoeuvres bv: rollen, gieren, stampen, snelle start- en stopmanoeuvres.Rollen is draaien rond de longitudinale as, stampen rond de laterale as en gieren rond de top as.
2. Wat is de 3D krachten verhouding bij bepaalde vinkinematica configuraties? Door middel van de visualisatie van 3D vinkinematica kan een afschatting gemaakt worden wat een efficiënte voortstuwing is met betrekking tot een zeer specifiek manoeuvre en waarom.
3. Bestaat er een relatie tussen het gebruik van specifieke vinkinematica en daarmee corresponderende bewegingen met betrekking op gedragsaspecten en omgevingsfactoren bv. jager - prooirelatie, bewegen en leven in moeilijk toegankelijke gebieden?
4. Zijn er andere eigenschappen van de vinnen (elasticiteit van het vinmateriaal, buiging van de vinstralen) die een belangrijke rol spelen bij het zwemmen en manoeuvreren van deze dieren? Zo ja, in welke mate en waarom zijn deze eigenschappen belangrijk?
5. Heeft de aanhechting van een undulerende vin aan een star lichaam een hydrodynamisch voordeel tegenover een dier dat met zijn volledige lichaam unduleert? Zo ja, welke?

Deze aanvraag richt zich enkel op proeven met betrekking tot deelvraag 1 & 2. Voor de andere deelvragen zal een aparte DEC aanvraag geschreven worden.

Het uiteindelijk doel op wetenschappelijk niveau is fundamenteel inzicht krijgen in de werking van de voortstuwing en manoeuvreerbaarheid door undulerende vinnen aan een star lichaam. Deze vorm van locomotie wordt gebruikt door zeepaarden, zeenaalden en sepia. Door een inzicht te verwerven in de relatie tussen de vinkinematica en bepaalde manoeuvres (stabiel zwemmen op lage snelheden, zowel voorwaarts als achterwaarts, hovering, snelle start- en stopmanoeuvres, snel draaien: gieren, stampen en rollen) zal men beter begrijpen waarom zeepaarden, zeenaalden en sepia in zeer dicht beplante en moeilijk toegankelijke gebieden kunnen leven. Deze proeven zullen ook bijdragen aan kennis in andere vakgebieden dan de biologie, waaronder stromingsleer en hydrodynamica. Op een breder niveau zullen deze proeven bijdragen tot een verbeterde kennis van de fysiologie, gedrag en ecologie van zeepaarden, zeenaalden en sepia.

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

Voorafgaand aan deze proeven is er een biomimetische onderwaterrobot gebouwd aan de [REDACTED] door een studententeam waarin de aanvrager het voortstuwingsdeel ontworpen en ontwikkeld heeft. Deze robot beweegt zich voort door middel van twee laterale undulerende vinnen, Simons et al. (2009). Verder zijn er twee masterthesissen geschreven met een nieuwe test setup om de voortstuwing en stroming rond een undulerende vin aan een vast lichaam in kaart te brengen (Henrion 2010, Vercruyssen 2010). De nauwkeurigheid van seismische metingen en andere omgevings afhankelijke metingen in moeilijk bereikbare gebieden vragen een optimaal bestuurbare, efficiënte en multifunctionele robot. De kennis uit de proeven zal gebruikt worden om de robot de gewenste kinematische eigenschappen te geven. Hiermee zal de controleerbaarheid, stabiliteit en manoeuvreerbaarheid van de volledige robot verbeterd worden. Het eindproduct zal gebruikt worden voor onderwater inspectie en controlerende taken,

kwaliteitsmetingen in verschillende onderwatergebieden, hulp voor duikers bij verschillende werkzaamheden, seismische metingen in ontoegankelijke gebieden, etc. Verschillende bedrijven en instituten o.a. [REDACTED] hebben al interesse laten blijken in het uiteindelijke eindproduct. Het uiteindelijke eindproduct zal het eerste product in zijn soort zijn in Europa.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 01-03-2011 tot 29-02-2012

3. Specificatie diergroepen:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	20	vissen *)	zie specificatie	onder
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	20	vissen *)	zie specificatie	onder
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	20	vissen *)	zie specificatie	onder

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus),
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae),
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.)).

De juiste onderfamilies van deze dieren kunnen op dit moment nog niet bepaald worden aangezien deze van een aantal factoren afhankelijk zijn:

" De mate van patronen op de huid van de dieren. De dieren zullen bij de groothandel geselecteerd worden op de herkenbaarheid van de patronen die ze op hun lichaam hebben om de vin kinematica met behulp van tracking methodes af te leiden. Dit kan individueel binnen een onderfamilie zeer sterk variëren.

" Gezondheid van de dieren. De dieren zullen geselecteerd worden op tekenen van levendigheid en gezondheid in de groothandel. Dieren die gebreken vertonen worden niet gekocht.

" Grootte van de vinnen. Om een vergelijkende studie te kunnen doen tussen de verschillende diersoorten moet aan enkele wetmatigheden van de vloeistofmechanica voldaan worden (bv. zelfde orde Reynoldsnummer). Hierbij speelt de lengte van de vin, flapfrequentie en amplitude een rol, alsook de zwemsnelheid. Vooral de vinlengte is afhankelijk van de leeftijd van de dieren.

" Beschikbaarheid. Zeepaarden, zeenaalden en Sepia zijn niet verkrijgbaar op elk moment. De diversiteit is ook niet altijd even groot in de groothandel. Er zal dus op de voet gevolgd worden waar en wanneer welke soort aanwezig is en of deze geschikt is voor de proeven.

Voor de leeftijdscategorieën kan volgende indeling aangehouden worden:

Zeepaarden: adult

Zeenaalden: adult

Sepia: hatchling - juvenile, i.e. mantellengte tussen 5 - 10 cm, Oestmann et al (1997).

De zeepaarden en zeenaalden zullen gekocht worden in de volwassen fase. De Sepia zullen aangekocht worden in de hatchling fase zodat ze in hun ontwikkeling kunnen wennen aan de omgevingsfactoren van het aquarium waarin ze zullen gehouden worden. Dit maakt de dieren beter bestand tegen stress en vergroot hun kans op een langer leven, Oestmann et al (1997).

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

Deze dieren zijn gekozen om hun unieke lichaamsbouw en voortbeweging zoals reeds aangegeven in paragraaf 1. De robot wordt gekenmerkt door een star lichaam met laterale undulerende vinnen. Zeepaarden, zeenaalden en zeekatten hebben een bijna star lichaam met daaraan een of meerdere vinnen gehecht. Het grootste deel van de voorstuwing van het zeepaard gebeurt met de dorsale vin. De dieren zijn relatief klein wat het faciliteren, trainen en experimenteren in relatief kleine omgevingen

mogelijk maakt zodat dit in het [REDACTED] kan gebeuren. De bovengenoemde dieren zijn bovendien trainbaar, wat nodig is om nauwkeurige en diverse experimenten mee te doen (Roos et al. (2009), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008), Komak et al. (2005)). De dieren zullen voornamelijk gehaald worden bij [REDACTED] waar ze al gewend zijn aan beweging, voederen en mensen.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Een poweranalyse kan niet worden uitgevoerd aangezien geen voorgaande data beschikbaar zijn om deze analyse goed uit te kunnen voeren. We gaan ervan uit dat met een zelfde dier meerdere zwemexperimenten kunnen uitgevoerd worden. Aangezien er onderlinge verschillen zullen zijn tussen dieren is een aantal van 5 dieren genoeg om statistisch afdoende en publiceerbare resultaten mee te verkrijgen, ook als de spreiding aanzienlijk is. Dit verwachten we omdat de proeven slechts beperkt controleerbaar zijn aangezien de dieren vrij mogen/moeten zwemmen. Indien er sterfgevallen zijn zullen deze dieren gebruikt worden als model voor weerstandsmetingen. Het aantal benodigde dieren voor de proef hebben wij vastgesteld op minimaal 3 - 5, optimaal tussen 5 en 10, en is tot stand gekomen middels onderstaande redenering:

1) 30-50 % mortaliteit door verplaatsing van de dieren van de groothandel naar het leef aquarium. Dit hebben wij ondervonden bij eerdere bestellingen van zeepaarden waarbij de overplaatsing volgens strikte regels is verlopen. (De dieren werden in speciale anti stress zakken (zwarte wand) met zuurstof vervoerd in temperatuurodozen. Bij aankomst werden de waterkwaliteiten van het water in de zakken gemeten en het aquariumwater werd hierop ingesteld, gelijkgesteld.

2) Het aantal dieren nodig voor publiceerbare resultaten over de proeven die wij willen doen ligt minimaal op 3-5 (mondelinge communicatie met David Lentink). Dit betekent dat 5 zeepaarden van de overgebleven zeepaarden (die goed door de verplaatsing zijn gekomen) goed moeten zwemmen. Wij hebben gemerkt bij proefmetingen dat van de dieren die overblijven, 20 tot 30 % niet de gewenste mobiliteit en activiteit vertonen. Om andere sterftes op te vangen (ouderdom, ongekende oorzaken) zijn wij op een aantal van 20 dieren gekomen.

3) Een derde reden voor 20 proefdieren is het feit dat deze dieren maar zeer zelden kunnen aangeschaft worden. Dit stelt ons in staat om dan ook meteen genoeg dieren aan te schaffen voor onze experimenten, alle bovengenoemde zaken in acht genomen.

De dieren die nu al in het leef aquarium zitten blijven daar inzitten en in hun aquarium worden locomotie experimenten uitgevoerd. De nieuwe dieren komen in een extra nieuw ontworpen aquarium.

4.d. Herkomst:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus) Nederland	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae) Nederland	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.)) Nederland	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in

Toelichting:

De dieren zullen gekocht worden bij [REDACTED] Indien de dieren niet voorradig zijn bij deze groothandel dan zullen ze elders aangeschaft worden. Dit hangt af van welke dieren waar en wanneer voorradig zijn. Dit zal gebeuren in overleg met proefdierdeskundige [REDACTED] en biotechnicus [REDACTED].

5.a. Accommodatie: Elders

De zeepaardjes en zeenaalden zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend water op een constante temperatuur van 24 graden Celsius en een constante zoutconcentratie van 35 p.p.t of zeewater (Roos et al. 2009, Ashley-Ross 2002). De Sepia zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend zeewater op een temperatuur van 18 graden Celsius, Jozet-Alves et al. (2008). Beide aquaria worden uitgerust met een filter systeem bestaande uit: 5 kg levend steen, een eiwitafschuimer, actieve kool en UV filtering. De temperatuurvoorziening bestaat uit een TECO TC-15 + pomp Eheim 1000 om de temperatuur in beide aquaria constant te houden. Boven de twee aquaria zal een Philips Daylight Sono - 6000 K, 90 cm T8 gehangen worden om het juiste licht te voorzien. Voor de zeepaarden zal er in het aquarium bepaalde ankerpunten worden voorzien in de vorm van kunststof horrengaas of kunststof planten. Voor Sepia zullen schuilplaatsen voorzien worden. Er zal een voorraad bak van 250 l zeewater voorzien worden voor verversing of overplaatsing van dieren. Deze bak zal voorzien zijn van een luchtpompje + heater. Om de waterkwaliteit te reguleren worden de ammonia, nitriet, nitraat, pH en zoutconcentratie regelmatig gemeten om aan de nodige vereisten te voldoen, Oestmann et al (1997).

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De zeepaardjes en zeenaalden zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend water op een constante temperatuur van 24 graden Celsius en een constante zoutheidsgraad van 35 p.p.t of zeewater (Roos et al. 2009, Ashley-Ross 2002). De sepia zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend zeewater op een temperatuur van 18 graden Celsius, Jozet-Alves et al. (2008). Beide aquaria worden uitgerust met een filter systeem bestaande uit: 5 kg levend steen, een eiwitafschuimer, actieve kool en een UV filtering. De temperatuurvoorziening bestaat uit een TECO TC-15 + pomp Eheim 1000 om de temperatuur in beide aquaria constant te houden. Boven de twee aquaria zal een Philips Daylight Sono - 6000 K, 90 cm T8 gehangen worden om het juiste licht te voorzien. Voor de zeepaarden zal er in het aquarium bepaalde ankerpunten worden voorzien in de vorm van kunststof horrengaas of kunststof planten. Voor de sepia zullen schuilplaatsen voorzien worden. Er zal een voorraad bak van 250 l zeewater voorzien worden voor verversing of overplaatsing van dieren. Deze bak zal voorzien zijn van een luchtpompje + heater. Om de waterkwaliteit te reguleren worden de ammonia, nitriet, nitraat, pH en zoutconcentratie regelmatig gemeten om aan de nodige vereisten te voldoen, Oestmann et al (1997).

5.c. Voeding:

De zeepaardjes en zeenaalden zullen meerdere keren per dag (minimaal twee) gevoerd worden met *Neomysis vulgaris*, Roos et al. (2009) of *Mysis* en *Artemia*. Er zal getracht worden om de dieren te laten wennen aan dood, ingevroren voedsel. Dit heeft als voordeel dat er geen eigen kweekprogramma voor levende *Mysis* of *Artemia* opgezet moet worden, wat zeer arbeidsintensief is en geen onderdeel van het onderzoek. De Sepia zullen eenmaal per dag gevoederd worden met garnalen (*Crangon crangon*) of krabben (*Carcinus maenas*) (Oestmann et al (1997), Jozet-Alves et al. (2008)).

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Aankomst

Alle dieren zullen na hun aankomst 3 weken in een aquarium worden gehouden om aan de omstandigheden te wennen, hetgeen langer is dan toegepast door Alves et al. (2007) en Oestmann et al (1997).

Training

De dieren zullen overgeplaatst worden van hun aquarium waarin ze leven naar een speciaal aquarium dat voldoet aan de eisen van het experiment. Deze eisen zijn afhankelijk van het beoogde doel van de meting en zullen in hoofdzaak de afmetingen van de aquaria beïnvloeden (bv. als voorwaarts zwemmen onderzocht wordt, zal een lang smal aquarium gebruikt worden.) Indien de te onderzoeken bewegingen niet spontaan gebeuren, zullen de dieren getraind worden. Dit is noodzakelijk aangezien de dieren door een zekere meetsectie moeten bewegen om het maken van gedetailleerde high speed beelden mogelijk te maken. De camera's kunnen niet simultaan verplaatst worden met de beweging van het dier. Het trainen van de zeenaalden en zeepaardjes zal gebeuren door hen voedsel te geven op bepaalde plaatsen

in het test aquarium, Roos et al. (2009). Op deze manieren kunnen bewegingen uitgelokt worden, zoals van A naar B zwemmen, zowel voorwaarts als naar onder of boven. De vinkinematica bij draaibewegingen kan opgenomen worden door de dieren voedsel aan te bieden op een plaats waarvoor ze een draaibeweging moeten maken. Sepia kunnen op diverse manieren getraind worden. Een eerste techniek is hen laten reageren op lokale verstoringen in het water tijdens de onvolwassen fase, Komak et al. (2005). Sepia kunnen ook getraind worden op plaats herkenning of repetitieve reacties op visuele stimuli (Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)). Zo kunnen we de sepia van een locatie A naar een locatie B laten gaan.

Experiment

In de eerste plaats gaan we gebruik maken van de spontane beweging van de dieren om onze meetdata te verkrijgen. Indien de vooropgestelde bewegingen niet door spontaan zwemmen gegenereerd worden, zullen we terugvallen op getrainde bewegingen zoals hierboven beschreven. Het experiment bestaat uit volgende onderdelen:

1. Algemene locomotie data: snelheden en acceleraties kunnen afgeleid worden uit high speed camerabeelden over het afgelegde pad. Hieruit kan een netto kracht afgeleid worden.
2. 3D vin kinematica vastleggen door middel van high speed camerabeelden bij verschillende manoeuvres: voorwaarts zwemmen, stijgen, dalen, start- en stopmanoeuvres, verschillende draaibewegingen (rollen, gieren en stampen) en hovering. Rollen is draaien rond de longitudinale as, stampen rond de laterale as en gieren rond de top as.

6.b. Mate van ongerief:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	A. Gering
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	A. Gering
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	A. Gering

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

Bij het vervoer van [REDACTED] naar de aquaria van [REDACTED] wordt hooguit gering ongerief verwacht. [REDACTED] is gespecialiseerd in het vervoer van vissen naar zoos in Europa. We verwachten geen ongerief tijdens de houderij van de dieren. Sepia zijn over het algemeen stressgevoelige dieren. Aangezien de sepia bij [REDACTED] gekweekt zijn zullen deze dieren minder stressgevoelig zijn omdat ze opgegroeid zijn in een aquarium in een groothandel. De proeven worden zo opgebouwd zodat stress en ongerief zoveel mogelijk worden vermeden en de dieren geleidelijk aan de experimentele omstandigheden kunnen wennen. Het ongerief bij de locomotieexperimenten is gering aangezien het vrij bewegen van de dieren zal bekeken worden. De stress van de dieren door training wordt mogelijk enigszins verhoogd omdat er bij extra licht getraind zal worden. De training op zich zal geen extra stress leveren aangezien het maken van een bepaalde beweging een keuze van het dier zelf is en hoogstens uitgelokt kan worden. Zeepaarden en zeenaalden zijn redelijk goed tegen bestand tegen extra licht, echter bij Sepia kan er meer stress opgewekt worden. Hierop zal snel worden ingespeeld door gedragswaarnemingen. Ook het verplaatsen van dieren van hun leef aquarium naar het testaquarium kan een zekere stress opleveren. Dit zal beperkt worden door telkens een ander exemplaar voor een test te gebruiken zodat niet enkelingen meer stress hebben dan anderen. Het nemen van hoge snelheidsbeelden voor de 3D vinkinematica zal gestart worden nadat de dieren gewend zijn aan mensen en de omgeving, waardoor de stress zal afnemen. Ook zal de algemene gezondheid van de dieren nauwlettend in het oog gehouden worden.

Vervoer:

Gering ongerief: [REDACTED] is gespecialiseerd in het vervoer van vissen naar verschillende zoos in Europa. Lichte stress kan aanwezig zijn bij de sepia.

Houderij:

Geen ongerief: De dieren zullen in een natuurlijk habitat gehouden worden zoals in paragraaf 5 aangegeven.

Training:

" Voorwaarts zwemmen: Geen ongerief

Dit doen de dieren in hun natuurlijke omgeving ook.

" Hovering: Geen ongerief

Dit doen de dieren in hun natuurlijke omgeving ook.

" Bewegingen: Geen ongerief

Hun hoge mate van manoeuvreerbaarheid is juist de reden voor selectie. Een bepaalde beweging kan uitgelokt worden m.b.v. voedsel aan te bieden, echter de keuze om een beweging te maken ligt bij het dier zelf. Verhoogde stress bij Sepia is nog niet gerapporteerd in voorgaande studies met getrainde sepia (Komak et al. (2005), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)).

" Invloed van extra licht: Gering ongerief

Er kan een zekere stress ontstaan bij het zwemmen van de dieren onder omstandigheden met extra licht. Er zal een stapsgewijze gewenning aan extra licht worden doorgevoerd. Er zal extra aandacht besteed worden bij het plaatsen van extra licht bij experimenten met de sepia aangezien zij meestal in donkere plaatsen leven.

Experiment

" Bewegingen: Geen ongerief

Hun hoge mate van manoeuvreerbaarheid is juist de reden voor selectie. Een bepaalde beweging kan uitgelokt worden m.b.v. voedsel aan te bieden, echter de keuze om een beweging te doen ligt bij het dier zelf. Verhoogde stress bij sepia is nog niet gerapporteerd in voorgaande studies met getrainde sepia (Komak et al. (2005), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)).

" Invloed van speciale lichten en camera's: Gering ongerief

Er kan een zekere stress ontstaan bij het zwemmen van de dieren onder omstandigheden met extra licht. Er zal een stapsgewijze gewenning aan extra licht worden doorgevoerd. Er zal extra aandacht besteed worden bij het plaatsen van extra licht bij experimenten met de sepia aangezien zij meestal in donkere plaatsen leven.

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

Anesthesie:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))

A. Niet toegepast (geen aanleiding).
A. Niet toegepast (geen aanleiding).
A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)
aanleiding bestaat.
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)

A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen
A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen

aanleiding bestaat.

zeekat (Sepiidea - *Sepia officinalis* (juv.))
aanleiding bestaat.

A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen

De belangrijkste maatregel die genomen is om het ongerief tot een minimum te beperken is om dieren te kiezen die van nature de bewegingen maken die wij willen onderzoeken. Hierdoor is het ongerief door het opleggen van bepaalde zwemregimes en bewegingen minimaal. De dieren zijn gekozen omdat ze zeer goede manoeuvreerbaarheid vertonen en redelijk goed trainbaar zijn.

De locomotie experimenten worden uitgevoerd in het leef aquarium omdat we gemerkt hebben dat er hevige stress reacties ontstaan bij overplaatsing van de dieren van het leef aquarium naar het testaquarium. De dieren ondervinden geringe stress bij het uitvoeren van locomotie experimenten in het leef aquarium aangezien hier alleen het benodigde licht voor de camera's geleidelijk aan wordt opgevoerd en ze niet meer hoeven verplaatst te worden.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)

Het dier is na de proef in leven gelaten.

zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)

Het dier is na de proef in leven gelaten.

zeekat (Sepiidea - *Sepia officinalis* (juv.))

Het dier is na de proef in leven gelaten.

Toelichting:

Gezonde dieren zullen na de proef in hun leefaquaria gehouden worden voor hergebruik. Indien de proef ten einde is, zullen gezonde dieren overgedragen worden aan een dierentuin of vergelijkbare instelling. Indien onverhoopt het dier niet voor hergebruik of overdracht in aanmerking komt, zal het dier gedood worden na het einde van de proef en zal er anatomisch onderzoek plaatsvinden. De zeepaarden en zeenaalden worden gedood door een overdosis tricaine methane sulfonate (MS-222; 5 g/l) in zeewater. De *Sepia* worden gedood door een snelle koeling in ijskoud zeewater met een 10% oplossing van magnesium chloride in zeewater, Oestmann et al (1997). Er zal echter altijd getracht worden het maximale aantal dieren in leven te houden.

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

Vervanging:

Het bestuderen van de locomotie van zeepaarden, zeenaalden en *sepia* is niet mogelijk in aquaria waar de dieren verblijven, noch in een groothandel of in een zoo. De omstandigheden in deze aquaria, (hoeveelheid licht, grootte aquaria, omgevingsfactoren zoals luchtvochtigheid, warmte, etc.) zijn niet optimaal om de beoogde proef in uit te voeren.

Een op de natuur geïnspireerde onderwaterrobot die het zwemgedrag van zeepaarden, zeenaalden of *sepia* benadert is momenteel geen alternatief voor dierproeven aangezien die er nog niet is. De reden hiervoor is dat ze eerst uitontwikkeld, getest en gevalideerd moeten worden met de data die we met deze proeven willen verkrijgen.

Echter, het vernieuwende onderzoek dat met onze opstelling gedaan kan worden en fundamentele inzichten die het zal opleveren, kunnen gebruikt worden om numerieke simulaties en robotvissen te verbeteren waardoor deze waardevoller worden en op termijn een alternatief kunnen zijn voor een aantal dierproeven.

Verfijning:

Indien de dieren te veel last ondervinden van het licht zal er geprobeerd worden met minder licht te werken. Als de op maat gemaakte testaquaria voor te veel stress zorgen bij de dieren zal getracht worden in grotere aquaria te testen. Dit heeft als consequentie dat het maken van de beoogde hogesnelheidsbeelden veel lastiger wordt aangezien de meetsectie wordt vergroot. Bij de keuze van de camera's wordt echter extra aandacht besteed aan de lichtgevoeligheid van de sensor zodat met minder extra licht kan gewerkt worden.

Vermindering:

Het aantal dieren nodig voor de proef hangt heel sterk af van de mate waarin goede data kunnen verkregen worden van de dieren. Dieren die minder stressgevoelig en zeer beweeglijk zijn zullen waarschijnlijk gemakkelijkere proefdieren zijn dan stressgevoeligere dieren. Om niet een paar dieren te overbelasten en de stress te minimaliseren is het noodzakelijk meerdere dieren te houden zodat de zwemproeven niet steeds met dezelfde dieren binnen een onderfamilie moeten gehouden worden. Een aantal van tien dieren per soort, waarin bepaalde dieren beter zullen presteren dan andere, is genoeg om publiceerbare resultaten mee te behalen. De verschillende prestaties van verschillende dieren van dezelfde onderfamilie kunnen hierdoor vergeleken worden.

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

Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2011027.c (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					37	2	1	01					
zeepaard (<i>Syngnathidea</i> - <i>Hippocampus</i>)	1	89	1	20						01	1	1	1 3
zeenaald (<i>Syngnathidea</i> - <i>Syngnathinae</i>)	1	89	1	20						01	1	1	1 3
zeekat (<i>Sepiidea</i> - <i>Sepia officinalis</i> (juv.))	1	89	1	20						01	1	1	1 3

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:
Afdeling:

Titel dierproef: Vin- en lichaamskinematica en stromingsonderzoek continu zwemmen, hovering en manoeuvreerbaarheid van zeepaard, zeenaald en sepie

Aanmeldcode / Protocol: 2011027.d

Stadia van de proef:

05-01-2012	Aangemeld	
12-01-2012	Wijzigen	Secretaris van de DEC
13-01-2012	Gekopieerd	

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

De proef is wetenschappelijk waardevol bevonden door [redacted] en [redacted], allebei verbonden als onderzoeker aan [redacted] en experts op het gebied van zwemgedrag van vissen. De vraagstelling is tot stand gekomen op basis van een literatuurstudie van [redacted] met betrekking tot zijn promotie.

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t.wetensch. vraag

Het hoofddoel van dit onderzoek is tweeledig:

- 1) een beter inzicht verkrijgen in propulsie en manoeuvreerbaarheid door middel van undulerende vinnen.
- 2) de ontwikkeling van een stabiel en manoeuvreerbaar biomimetisch onderwater meetplatform bij lage snelheden.

Het sensor platform zal gebruikt worden voor seismische metingen, inspecties en als hulp bij andere onderwater taken. Het voortstuwingsonderdeel van deze robot bestaat uit meerdere undulerende vinnen. Dit onderzoek loopt in twee parallelle lijnen. Het biologische aspect van het onderzoek vindt plaats aan het [redacted]. Het ontwerp van een geïntegreerd controle systeem voor de robot gebeurt aan het [redacted].

Zeepaarden, zeenaalden en sepie bewegen zich voort door middel van een undulerende vin. Deze vin zit vast aan een (bijna) star lichaam. Hierdoor zijn deze dieren uitstekende manoeuvreerders en zeer stabiele zwimmers bij lage snelheden. Het onderzoek zal bestaan uit het vastleggen, verwerken en analyseren van locomotie data, vin- en lichaamskinematica en stromingspatronen rond zeepaarden, zeenaalden en sepie. Locomotie en vin- en lichaamskinematica data zal verkregen worden d.m.v. beeldanalyse en verwerking van high speed camerabeelden. Stromingsdata rond de vin en lichaam van bovengenoemde dieren zal verkregen worden d.m.v. particle image velocimetry (PIV).

Breder en Edgerton (1942) rapporteerden als eersten over bepaalde kinematische eigenschappen van

vinnen van zeepaarden onderzocht met hogesnelheidsbeelden. Blake (1976) onderzocht de vinkinematica eveneens met hoge snelheids camera beelden. Ashley-Ross (2002) bepaalde de flapfrequentie van de vinnen van zeepaarden en zeenaalden en deed een onderzoek naar de mechanische eigenschappen van de vinnen.

Met dit onderzoek willen wij een antwoord verkrijgen op volgende concrete vragen:

1. Hoe en waarom veranderen vinkinematica configuraties (amplitude, frequentie en golfgetal) onder invloed van:
 - a. Verschillende continue zwemsnelheden en richtingen (voorwaarts, achterwaarts, naar boven en beneden)
 - b. Ter plaatse blijven hangen in het water (hovering)
 - c. Verschillende manoeuvres bv: rollen, gieren, stampen, snelle start- en stopmanoeuvres. Rollen is draaien rond de longitudinale as, stampen rond de laterale as en gieren rond de top as.
2. Wat is de 3D krachten verhouding bij bepaalde vinkinematica configuraties? Door middel van de visualisatie van 3D vinkinematica kan een afchatting gemaakt worden wat een efficiënte voortstuwing is met betrekking tot een zeer specifiek manoeuvre en waarom.
3. Bestaat er een relatie tussen het gebruik van specifieke vinkinematica en daarmee corresponderende bewegingen met betrekking op gedragsaspecten en omgevingsfactoren bv. jager - prooirelatie, bewegen en leven in moeilijk toegankelijke gebieden?
4. Zijn er andere eigenschappen van de vinnen (elasticiteit van het vinmateriaal, buiging van de vinstralen) die een belangrijke rol spelen bij het zwemmen en manoeuvreren van deze dieren? Zo ja, in welke mate en waarom zijn deze eigenschappen belangrijk?
5. Heeft de aanhechting van een undulerende vin aan een star lichaam een hydrodynamisch voordeel tegenover een dier dat met zijn volledige lichaam unduleert? Zo ja, welke?

Deze aanvraag richt zich enkel op proeven met betrekking tot deelvraag 1 & 2. Voor de andere deelvragen zal een aparte DEC aanvraag geschreven worden.

Het uiteindelijke doel op wetenschappelijk niveau is fundamenteel inzicht krijgen in de werking van de voortstuwing en manoeuvreerbaarheid door undulerende vinnen aan een star lichaam. Deze vorm van locomotie wordt gebruikt door zeepaarden, zeenaalden en sepiä. Door een inzicht te verwerven in de relatie tussen de vinkinematica en bepaalde manoeuvres (stabiel zwemmen op lage snelheden, zowel voorwaarts als achterwaarts, hovering, snelle start- en stopmanoeuvres, snel draaien: gieren, stampen en rollen) zal men beter begrijpen waarom zeepaarden, zeenaalden en sepiä in zeer dicht beplante en moeilijk toegankelijke gebieden kunnen leven. Deze proeven zullen ook bijdragen aan kennis in andere vakgebieden dan de biologie, waaronder stromingsleer en hydrodynamica. Op een breder niveau zullen deze proeven bijdragen tot een verbeterde kennis van de fysiologie, gedrag en ecologie van zeepaarden, zeenaalden en sepiä.

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

Voorafgaand aan deze proeven is er een biomimetische onderwaterrobot gebouwd aan de [REDACTED] door een studententeam waarin de aanvrager het voorstuwingsdeel ontworpen en ontwikkeld heeft. Deze robot beweegt zich voort door middel van twee laterale undulerende vinnen, Simons et al. (2009). Verder zijn er twee masterthesissen geschreven met een nieuwe test setup om de voortstuwing en stroming rond een undulerende vin aan een vast lichaam in kaart te brengen (Henrion 2010, Vercruyssen 2010). De nauwkeurigheid van seismische metingen en andere omgevings afhankelijke metingen in moeilijk bereikbare gebieden vragen een optimaal bestuurbare, efficiënte en multifunctionele robot. De kennis uit de proeven zal gebruikt worden om de robot de gewenste kinematische eigenschappen te geven. Hiermee zal de controleerbaarheid, stabiliteit en manoeuvreerbaarheid van de volledige robot verbeterd worden. Het eindproduct zal gebruikt worden voor onderwater inspectie en controlerende taken, kwaliteitsmetingen in verschillende onderwatergebieden, hulp voor duikers bij verschillende

werkzaamheden, seismische metingen in ontoegankelijke gebieden, etc. Verschillende bedrijven en instituten o.a. [REDACTED] hebben al interesse laten blijken in het uiteindelijke eindproduct. Het uiteindelijke eindproduct zal het eerste product in zijn soort zijn in Europa.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 10-01-2012 tot 01-01-2013

3. Specificatie diergroepen:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	20	vissen *)	zie specificatie	onder
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	20	vissen *)	zie specificatie	onder
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	10	vissen *)	zie specificatie	onder

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus),
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae),
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.)).

De juiste onderfamilies van deze dieren kunnen op dit moment nog niet bepaald worden aangezien deze van een aantal factoren afhankelijk zijn:

" De mate van patronen op de huid van de dieren. De dieren zullen bij de groothandel geselecteerd worden op de herkenbaarheid van de patronen die ze op hun lichaam hebben om de vin kinematica met behulp van tracking methodes af te leiden. Dit kan individueel binnen een onderfamilie zeer sterk variëren.

" Gezondheid van de dieren. De dieren zullen geselecteerd worden op tekenen van levendigheid en gezondheid in de groothandel. Dieren die gebreken vertonen worden niet gekocht.

" Grootte van de vinnen. Om een vergelijkende studie te kunnen doen tussen de verschillende diersoorten moet aan enkele wetmatigheden van de vloeistofmechanica voldaan worden (bv. zelfde orde Reynoldsnummer). Hierbij speelt de lengte van de vin, flapfrequentie en amplitude een rol, alsook de zwemsnelheid. Vooral de vinlengte is afhankelijk van de leeftijd van de dieren.

" Beschikbaarheid. Zeepaarden, zeenaalden en Sepia zijn niet verkrijgbaar op elk moment. De diversiteit is ook niet altijd even groot in de groothandel. Er zal dus op de voet gevolgd worden waar en wanneer welke soort aanwezig is en of deze geschikt is voor de proeven.

Voor de leeftijdscategorieën kan volgende indeling aangehouden worden:

Zeepaarden: adult
Zeenaalden: adult
Sepia: hatchling - juvenile, i.e. mantellengte tussen 5 - 10 cm, Oestmann et al (1997).

De zeepaarden en zeenaalden zullen gekocht worden in de volwassen fase. De Sepia zullen naar de aquaria worden gehaald in de hatchling fase zodat ze in hun ontwikkeling kunnen wennen aan de omgevingsfactoren van het aquarium waarin ze zullen gehouden worden. Dit maakt de dieren beter bestand tegen stress en vergroot hun kans op een langer leven, Oestmann et al (1997). De Sepia worden verkregen via Jan van der Veen, een marinebioloog werkzaam in Het Arsenaal, Vlissingen. Hij heeft jarenlange ervaring met de houderij van Sepia.

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

Deze dieren zijn gekozen om hun unieke lichaamsbouw en voortbeweging zoals reeds aangegeven in paragraaf 1. De robot wordt gekenmerkt door een star lichaam met laterale undulerende vinnen. Zeepaarden, zeenaalden en zeekatten hebben een bijna star lichaam met daaraan een of meerdere vinnen gehecht. Het grootste deel van de voorstuwing van het zeepaard gebeurt met de dorsale vin. De

dieren zijn relatief klein wat het faciliteren, trainen en experimenteren in relatief kleine omgevingen mogelijk maakt zodat dit in het [REDACTED] kan gebeuren. De bovengenoemde dieren zijn bovendien trainbaar, wat nodig is om nauwkeurige en diverse experimenten mee te doen (Roos et al. (2009), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008), Komak et al. (2005)). De dieren zullen voornamelijk gehaald worden bij [REDACTED] waar ze al gewend zijn aan beweging, voederen en mensen.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Een poweranalyse kan niet worden uitgevoerd aangezien geen voorgaande data beschikbaar zijn om deze analyse goed uit te kunnen voeren. We gaan ervan uit dat met een zelfde dier meerdere zwemexperimenten kunnen uitgevoerd worden. Aangezien er onderlinge verschillen zullen zijn tussen dieren is een aantal van 5 dieren genoeg om statistisch afdoende en publiceerbare resultaten mee te verkrijgen, ook als de spreiding aanzienlijk is. Dit verwachten we omdat de proeven slechts beperkt controleerbaar zijn aangezien de dieren vrij mogen/moeten zwemmen. Indien er sterfgevallen zijn zullen deze dieren gebruikt worden als model voor weerstandsmetingen. Het aantal benodigde dieren voor de proef hebben wij vastgesteld op minimaal 3 - 5, optimaal tussen 5 en 10, en is tot stand gekomen middels onderstaande redenering:

1) 30-50 % mortaliteit door verplaatsing van de dieren van de groothandel naar het leef aquarium. Dit hebben wij ondervonden bij eerdere bestellingen van zeepaarden waarbij de overplaatsing volgens strikte regels is verlopen. (De dieren werden in speciale anti stress zakken (zwarte wand) met zuurstof vervoerd in temperatuurdozen. Bij aankomst werden de waterkwaliteiten van het water in de zakken gemeten en het aquariumwater werd hierop ingesteld, gelijkgesteld.

2) Het aantal dieren nodig voor publiceerbare resultaten over de proeven die wij willen doen ligt minimaal op 3-5 (mondelinge communicatie met David Lentink). Dit betekent dat 5 zeepaarden van de overgebleven zeepaarden (die goed door de verplaatsing zijn gekomen) goed moeten zwemmen. Wij hebben gemerkt bij proefmetingen dat van de dieren die overblijven, 20 tot 30 % niet de gewenste mobiliteit en activiteit vertonen. Om andere sterftes op te vangen (ouderdom, ongekende oorzaken) zijn wij op een aantal van 20 dieren gekomen.

3) Een derde reden voor 20 proefdieren is het feit dat deze dieren maar zeer zelden kunnen aangeschaft worden. Dit stelt ons in staat om dan ook meteen genoeg dieren aan te schaffen voor onze experimenten, alle bovengenoemde zaken in acht genomen.

De dieren die nu al in het leef aquarium zitten blijven daar inzitten en in hun aquarium worden locomotie experimenten uitgevoerd. De nieuwe dieren komen in een extra nieuw ontworpen aquarium.

De reden dat er 10 nieuwe sepia worden gehaald komt door het feit dat een groot aantal sepia een natuurlijke dood is gestorven voor de eigenlijke proef kon starten. De proef kon niet eerder gestart worden aangezien de sepia aan bepaalde eisen moeten voldoen vooraleer de vin en lichaamskinematica kan gemeten worden (het lichaam en de vinnen moeten groot genoeg zijn om accurate beelden van te kunnen maken, er moeten bepaalde patronen op de vinnen zichtbaar zijn voor een goede tracking, de dieren worden getraind op experimentele condities zodat de dieren een minimum aan stress ondervinden). In het bijgevoegde document kan een gedetailleerdere verklaring voor de gestorven dieren gevonden worden. Dit is ook gecommuniceerd met Rob Steenmans.

4.d. Herkomst:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in
Nederland	
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in

Nederland

zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))

A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in

Nederland

Toelichting:

De dieren zullen gekocht worden bij [REDACTED]. Indien de dieren niet voorradig zijn bij deze groothandel dan zullen ze elders aangeschaft worden. Dit hangt af van welke dieren waar en wanneer voorradig zijn. Dit zal gebeuren in overleg met proefdierdeskundige [REDACTED] en biotechnicus [REDACTED].

5.a. Accommodatie: Elders

De zeepaardjes en zeenaalden zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend water op een constante temperatuur van 24 graden Celsius en een constante zoutconcentratie van 35 p.p.t of zeewater (Roos et al. 2009, Ashley-Ross 2002). De Sepia zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend zeewater op een temperatuur van 18 graden Celsius, Jozet-Alves et al. (2008). Beide aquaria worden uitgerust met een filter systeem bestaande uit: 5 kg levend steen, een eiwitafschuimer, actieve kool en UV filtering. De temperatuurvoorziening bestaat uit een TECO TC-15 + pomp Eheim 1000 om de temperatuur in beide aquaria constant te houden. Boven de twee aquaria zal een Philips Daylight Sono - 6000 K, 90 cm T8 gehangen worden om het juiste licht te voorzien. Voor de zeepaarden zal er in het aquarium bepaalde ankerpunten worden voorzien in de vorm van kunststof horrengaas of kunststof planten. Voor Sepia zullen schuilplaatsen voorzien worden. Er zal een voorraad bak van 250 l zeewater voorzien worden voor verversing of overplaatsing van dieren. Deze bak zal voorzien zijn van een luchtpompje + heater. Om de waterkwaliteit te reguleren worden de ammonia, nitriet, nitraat, pH en zoutconcentratie regelmatig gemeten om aan de nodige vereisten te voldoen, Oestmann et al (1997).

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De zeepaardjes en zeenaalden zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend water op een constante temperatuur van 24 graden Celsius en een constante zoutheidsgraad van 35 p.p.t of zeewater (Roos et al. 2009, Ashley-Ross 2002). De sepia zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend zeewater op een temperatuur van 18 graden Celsius, Jozet-Alves et al. (2008). Beide aquaria worden uitgerust met een filter systeem bestaande uit: 5 kg levend steen, een eiwitafschuimer, actieve kool en een UV filtering. De temperatuurvoorziening bestaat uit een TECO TC-15 + pomp Eheim 1000 om de temperatuur in beide aquaria constant te houden. Boven de twee aquaria zal een Philips Daylight Sono - 6000 K, 90 cm T8 gehangen worden om het juiste licht te voorzien. Voor de zeepaarden zal er in het aquarium bepaalde ankerpunten worden voorzien in de vorm van kunststof horrengaas of kunststof planten. Voor de sepia zullen schuilplaatsen voorzien worden. Er zal een voorraad bak van 250 l zeewater voorzien worden voor verversing of overplaatsing van dieren. Deze bak zal voorzien zijn van een luchtpompje + heater. Om de waterkwaliteit te reguleren worden de ammonia, nitriet, nitraat, pH en zoutconcentratie regelmatig gemeten om aan de nodige vereisten te voldoen, Oestmann et al (1997).

5.c. Voeding:

De zeepaardjes en zeenaalden zullen meerdere keren per dag (minimaal twee) gevoerd worden met Neomysis vulgaris, Roos et al. (2009) of Mysis en Artemia. Er zal getracht worden om de dieren te laten wennen aan dood, ingevroren voedsel. Dit heeft als voordeel dat er geen eigen kweekprogramma voor levende Mysis of Artemia opgezet moet worden, wat zeer arbeidsintensief is en geen onderdeel van het onderzoek. De Sepia zullen eenmaal per dag gevoederd worden met garnalen (Crangon crangon) of krabben (Carcinus maenas) (Oestmann et al (1997), Jozet-Alves et al. (2008)).

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Aankomst

Alle dieren zullen na hun aankomst 3 weken in een aquarium worden gehouden om aan de omstandigheden te wennen, hetgeen langer is dan toegepast door Alves et al. (2007) en Oestmann et al (1997).

Training

De dieren zullen overgeplaatst worden van hun aquarium waarin ze leven naar een speciaal aquarium dat voldoet aan de eisen van het experiment. Deze eisen zijn afhankelijk van het beoogde doel van de meting en zullen in hoofdzaak de afmetingen van de aquaria beïnvloeden (bv. als voorwaarts zwemmen onderzocht wordt, zal een lang smal aquarium gebruikt worden.) Indien de te onderzoeken bewegingen niet spontaan gebeuren, zullen de dieren getraind worden. Dit is noodzakelijk aangezien de dieren door een zekere meetsectie moeten bewegen om het maken van gedetailleerde high speed beelden mogelijk te maken. De camera's kunnen niet simultaan verplaatst worden met de beweging van het dier. Het trainen van de zeenaalden en zeepaardjes zal gebeuren door hen voedsel te geven op bepaalde plaatsen in het test aquarium, Roos et al. (2009). Op deze manieren kunnen bewegingen uitgelokt worden, zoals van A naar B zwemmen, zowel voorwaarts als naar onder of boven. De vinkinematica bij draaibewegingen kan opgenomen worden door de dieren voedsel aan te bieden op een plaats waarvoor ze een draaibeweging moeten maken. Sepia kunnen op diverse manieren getraind worden. Een eerste techniek is hen laten reageren op lokale verstoringen in het water tijdens de onvolwassen fase, Komak et al. (2005). Sepia kunnen ook getraind worden op plaats herkenning of repetitieve reacties op visuele stimuli (Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)). Zo kunnen we de sepia van een locatie A naar een locatie B laten gaan.

Experiment

In de eerste plaats gaan we gebruik maken van de spontane beweging van de dieren om onze meetdata te verkrijgen. Indien de vooropgestelde bewegingen niet door spontaan zwemmen gegenereerd worden, zullen we terugvallen op getrainde bewegingen zoals hierboven beschreven. Het experiment bestaat uit volgende onderdelen:

1. Algemene locomotie data: snelheden en acceleraties kunnen afgeleid worden uit high speed camerabeelden over het afgelegde pad. Hieruit kan een netto kracht afgeleid worden.
2. 3D vin kinematica vastleggen door middel van high speed camerabeelden bij verschillende manoeuvres: voorwaarts zwemmen, stijgen, dalen, start- en stopmanoeuvres, verschillende draaibewegingen (rollen, gieren en stampen) en hovering. Rollen is draaien rond de longitudinale as, stampen rond de laterale as en gieren rond de top as.

6.b. Mate van ongerief:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	A. Gering
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	A. Gering
zeekat (Sipiidea - Sepia officinalis (juv.))	A. Gering

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

Bij het vervoer van [] naar de aquaria van [] wordt hooguit gering ongerief verwacht. [] is gespecialiseerd in het vervoer van vissen naar zoos in Europa. We verwachten geen ongerief tijdens de houderij van de dieren. Sepia zijn over het algemeen stressgevoelige dieren. Aangezien de sepia bij [] gekweekt zijn zullen deze dieren minder stressgevoelig zijn omdat ze opgegroeid zijn in een aquarium in een groothandel. De proeven worden zo opgebouwd zodat stress en ongerief zoveel mogelijk worden vermeden en de dieren geleidelijk aan de experimentele omstandigheden kunnen wennen. Het ongerief bij de locomotieexperimenten is gering aangezien het vrij bewegen van de dieren zal bekeken worden. De stress van de dieren door training wordt mogelijk enigszins verhoogd omdat er bij extra licht getraind zal worden. De training op zich zal geen extra stress leveren aangezien het maken van een bepaalde beweging een keuze van het dier zelf is en hoogstens uitgelokt kan worden. Zeepaarden en zeenaalden zijn redelijk goed tegen bestand tegen extra licht, echter bij Sepia kan er meer stress opgewekt worden. Hierop zal snel worden ingespeeld door gedragswaarnemingen. Ook het verplaatsen van dieren van hun leef aquarium naar het testaquarium kan een zekere stress opleveren. Dit zal beperkt worden door telkens een ander exemplaar voor een test te gebruiken zodat niet enkelingen meer stress hebben dan anderen. Het nemen van hoge

snelheidsbeelden voor de 3D vinkinematica zal gestart worden nadat de dieren gewend zijn aan mensen en de omgeving, waardoor de stress zal afnemen. Ook zal de algemene gezondheid van de dieren nauwlettend in het oog gehouden worden.

Vervoer:

Gering ongerief: [REDACTED] is gespecialiseerd in het vervoer van vissen naar verschillende zoos in Europa. Lichte stress kan aanwezig zijn bij de sepia.

Houderij:

Geen ongerief: De dieren zullen in een natuurlijk habitat gehouden worden zoals in paragraaf 5 aangegeven.

Training:

" Voorwaarts zwemmen: Geen ongerief

Dit doen de dieren in hun natuurlijke omgeving ook.

" Hovering: Geen ongerief

Dit doen de dieren in hun natuurlijke omgeving ook.

" Bewegingen: Geen ongerief

Hun hoge mate van manoeuvreerbaarheid is juist de reden voor selectie. Een bepaalde beweging kan uitgelokt worden m.b.v. voedsel aan te bieden, echter de keuze om een beweging te maken ligt bij het dier zelf. Verhoogde stress bij Sepia is nog niet gerapporteerd in voorgaande studies met getrainde sepia (Komak et al. (2005), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)).

" Invloed van extra licht: Gering ongerief

Er kan een zekere stress ontstaan bij het zwemmen van de dieren onder omstandigheden met extra licht. Er zal een stapsgewijze gewenning aan extra licht worden doorgevoerd. Er zal extra aandacht besteed worden bij het plaatsen van extra licht bij experimenten met de sepia aangezien zij meestal in donkere plaatsen leven.

Experiment

" Bewegingen: Geen ongerief

Hun hoge mate van manoeuvreerbaarheid is juist de reden voor selectie. Een bepaalde beweging kan uitgelokt worden m.b.v. voedsel aan te bieden, echter de keuze om een beweging te doen ligt bij het dier zelf. Verhoogde stress bij sepia is nog niet gerapporteerd in voorgaande studies met getrainde sepia (Komak et al. (2005), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)).

" Invloed van speciale lichten en camera's: Gering ongerief

Er kan een zekere stress ontstaan bij het zwemmen van de dieren onder omstandigheden met extra licht. Er zal een stapsgewijze gewenning aan extra licht worden doorgevoerd. Er zal extra aandacht besteed worden bij het plaatsen van extra licht bij experimenten met de sepia aangezien zij meestal in donkere plaatsen leven.

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

Anesthesie:

- | | |
|--|--------------------------------------|
| zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus) | A. Niet toegepast (geen aanleiding). |
| zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae) | A. Niet toegepast (geen aanleiding). |
| zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.)) | A. Niet toegepast (geen aanleiding). |

Pijnbestrijding:

- | | |
|---|--|
| zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)
aanleiding bestaat. | A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen |
| zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)
aanleiding bestaat. | A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen |
| zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))
aanleiding bestaat. | A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen |

De belangrijkste maatregel die genomen is om het ongerief tot een minimum te beperken is om dieren te kiezen die van nature de bewegingen maken die wij willen onderzoeken. Hierdoor is het ongerief door het opleggen van bepaalde zwemregimes en bewegingen minimaal. De dieren zijn gekozen omdat ze zeer goede manoeuvreerbaarheid vertonen en redelijk goed trainbaar zijn.

De locomotie experimenten worden uitgevoerd in het leef aquarium omdat we gemerkt hebben dat er hevige stress reacties ontstaan bij overplaatsing van de dieren van het leef aquarium naar het testaquarium. De dieren ondervinden geringe stress bij het uitvoeren van locomotie experimenten in het leef aquarium aangezien hier alleen het benodigde licht voor de camera's geleidelijk aan wordt opgevoerd en ze niet meer hoeven verplaatst te worden.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

- | | |
|--|---|
| zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus) | Het dier is na de proef in leven gelaten. |
| zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae) | Het dier is na de proef in leven gelaten. |
| zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.)) | Het dier is na de proef in leven gelaten. |

Toelichting:

Gezonde dieren zullen na de proef in hun leefaquaria gehouden worden voor hergebruik. Indien de proef ten einde is, zullen gezonde dieren overgedragen worden aan een dierentuin of vergelijkbare instelling. Indien onverhoopt het dier niet voor hergebruik of overdracht in aanmerking komt, zal het dier gedood worden na het einde van de proef en zal er anatomisch onderzoek plaatsvinden. De zeepaarden en zeenaalden worden gedood door een overdosis tricaine methane sulfonate (MS-222; 5 g/l) in zeewater. De Sepia worden gedood door een snelle koeling in ijskoud zeewater met een 10% oplossing van magnesium chloride in zeewater, Oestmann et al (1997). Er zal echter altijd getracht worden het maximale aantal dieren in leven te houden.

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

Vervanging:

Het bestuderen van de locomotie van zeepaarden, zeenaalden en sepia is niet mogelijk in aquaria waar de dieren verblijven, noch in een groothandel of in een zoo. De omstandigheden in deze aquaria, (hoeveelheid licht, grootte aquaria, omgevingsfactoren zoals luchtvochtigheid, warmte, etc.) zijn niet optimaal om de beoogde proef in uit te voeren.

Een op de natuur geïnspireerde onderwaterrobot die het zwemgedrag van zeepaarden, zeenaalden of sepia benadert is momenteel geen alternatief voor dierproeven aangezien die er nog niet is. De reden hiervoor is dat ze eerst uitontwikkeld, getest en gevalideerd moeten worden met de data die we met deze proeven willen verkrijgen.

Echter, het vernieuwende onderzoek dat met onze opstelling gedaan kan worden en fundamentele inzichten die het zal opleveren, kunnen gebruikt worden om numerieke simulaties en robotvissen te verbeteren waardoor deze waardevoller worden en op termijn een alternatief kunnen zijn voor een aantal dierproeven.

Verfijning:

Indien de dieren te veel last ondervinden van het licht zal er geprobeerd worden met minder licht te werken. Als de op maat gemaakte testaquaria voor te veel stress zorgen bij de dieren zal getracht worden in grotere aquaria te testen. Dit heeft als consequentie dat het maken van de beoogde hogesnelheidsbeelden veel lastiger wordt aangezien de meetsectie wordt vergroot. Bij de keuze van de camera's wordt echter extra aandacht besteed aan de lichtgevoeligheid van de sensor zodat met minder extra licht kan gewerkt worden.

Vermindering:

Het aantal dieren nodig voor de proef hangt heel sterk af van de mate waarin goede data kunnen verkregen worden van de dieren. Dieren die minder stressgevoelig en zeer beweeglijk zijn zullen waarschijnlijk gemakkelijkere proefdieren zijn dan stressgevoeligere dieren. Om niet een paar dieren te overbelasten en de stress te minimaliseren is het noodzakelijk meerdere dieren te houden zodat de zwemproeven niet steeds met dezelfde dieren binnen een onderfamilie moeten gehouden worden. Een aantal van tien dieren per soort, waarin bepaalde dieren beter zullen presteren dan andere, is genoeg om publiceerbare resultaten mee te behalen. De verschillende prestaties van verschillende dieren van dezelfde onderfamilie kunnen hierdoor vergeleken worden.

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

[REDACTED]

Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2011027.d (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					37	2	1	01					
<u>zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)</u>	1	89	1	20						01	1	1	3
<u>zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)</u>	1	89	1	20						01	1	1	3
<u>zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))</u>	1	89	1	10						01	1	1	3

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:
Afdeling:

Titel dierproef: Vin- en lichaamskinematica en stromingsonderzoek continu zwemmen, hovering en manoeuvreerbaarheid van zeepaard, zeenaald en sepie

Aanmeldcode / Protocol: 2011027.e

Stadia van de proef:

13-01-2012	Aangemeld
13-01-2012	Positief advies
13-02-2013	Opmerkingen
22-02-2013	Welzijnsevaluatie aangemaakt

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

De proef is wetenschappelijk waardevol bevonden door [redacted] en [redacted], allebei verbonden als onderzoeker aan [redacted] experts op het gebied van zwemgedrag van vissen. De vraagstelling is tot stand gekomen op basis van een literatuurstudie van [redacted] met betrekking tot zijn promotie.

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t.wetensch. vraag
Het hoofddoel van dit onderzoek is tweeledig:

- 1) een beter inzicht verkrijgen in propulsie en manoeuvreerbaarheid door middel van undulerende vinnen.
- 2) de ontwikkeling van een stabiel en manoeuvreerbaar biomimetisch onderwater meetplatform bij lage snelheden.

Het sensor platform zal gebruikt worden voor seismische metingen, inspecties en als hulp bij andere onderwater taken. Het voortstuwingsonderdeel van deze robot bestaat uit meerdere undulerende vinnen. Dit onderzoek loopt in twee parallelle lijnen. Het biologische aspect van het onderzoek vindt plaats aan het [redacted]. Het ontwerp van een geïntegreerd controle systeem voor de robot gebeurt aan het [redacted].

Zeepaarden, zeenaalden en sepie bewegen zich voort door middel van een undulerende vin. Deze vin zit vast aan een (bijna) star lichaam. Hierdoor zijn deze dieren uitstekende manoeuvreerders en zeer stabiele zwimmers bij lage snelheden. Het onderzoek zal bestaan uit het vastleggen, verwerken en analyseren van locomotie data, vin- en lichaamskinematica en stromingspatronen rond zeepaarden, zeenaalden en sepie. Locomotie en vin- en lichaamskinematica data zal verkregen worden d.m.v. beeldanalyse en verwerking van high speed camerabeelden. Stromingsdata rond de vin en lichaam van bovengenoemde dieren zal verkregen worden d.m.v. particle image velocimetry (PIV).

Breder en Edgerton (1942) rapporteerden als eersten over bepaalde kinematische eigenschappen van vinnen van zeepaarden onderzocht met hogesnelheidsbeelden. Blake (1976) onderzocht de vinkinematica eveneens met hoge snelheids camera beelden. Ashley-Ross (2002) bepaalde de flapfrequentie van de vinnen van zeepaarden en zeenaalden en deed een onderzoek naar de mechanische eigenschappen van de vinnen.

Met dit onderzoek willen wij een antwoord verkrijgen op volgende concrete vragen:

1. Hoe en waarom veranderen vinkinematica configuraties (amplitude, frequentie en golfgetal) onder invloed van:
 - a. Verschillende continue zwemsnelheden en richtingen (voorwaarts, achterwaarts, naar boven en beneden)
 - b. Ter plaatse blijven hangen in het water (hovering)
 - c. Verschillende manoeuvres bv: rollen, gieren, stampen, snelle start- en stopmanoeuvres. Rollen is draaien rond de longitudinale as, stampen rond de laterale as en gieren rond de top as.
2. Wat is de 3D krachten verhouding bij bepaalde vinkinematica configuraties? Door middel van de visualisatie van 3D vinkinematica kan een afschatting gemaakt worden wat een efficiënte voortstuwing is met betrekking tot een zeer specifiek manoeuvre en waarom.
3. Bestaat er een relatie tussen het gebruik van specifieke vinkinematica en daarmee corresponderende bewegingen met betrekking op gedragsaspecten en omgevingsfactoren bv. jager - prooirelatie, bewegen en leven in moeilijk toegankelijke gebieden?
4. Zijn er andere eigenschappen van de vinnen (elasticiteit van het vinmateriaal, buiging van de vinstralen) die een belangrijke rol spelen bij het zwemmen en manoeuvreren van deze dieren? Zo ja, in welke mate en waarom zijn deze eigenschappen belangrijk?
5. Heeft de aanhechting van een undulerende vin aan een star lichaam een hydrodynamisch voordeel tegenover een dier dat met zijn volledige lichaam unduleert? Zo ja, welke?

Deze aanvraag richt zich enkel op proeven met betrekking tot deelvraag 1 & 2. Voor de andere deelvragen zal een aparte DEC aanvraag geschreven worden.

Het uiteindelijke doel op wetenschappelijk niveau is fundamenteel inzicht krijgen in de werking van de voortstuwing en manoeuvreerbaarheid door undulerende vinnen aan een star lichaam. Deze vorm van locomotie wordt gebruikt door zeepaarden, zeenaalden en sepiä. Door een inzicht te verwerven in de relatie tussen de vinkinematica en bepaalde manoeuvres (stabiel zwemmen op lage snelheden, zowel voorwaarts als achterwaarts, hovering, snelle start- en stopmanoeuvres, snel draaien: gieren, stampen en rollen) zal men beter begrijpen waarom zeepaarden, zeenaalden en sepiä in zeer dicht beplante en moeilijk toegankelijke gebieden kunnen leven. Deze proeven zullen ook bijdragen aan kennis in andere vakgebieden dan de biologie, waaronder stromingsleer en hydrodynamica. Op een breder niveau zullen deze proeven bijdragen tot een verbeterde kennis van de fysiologie, gedrag en ecologie van zeepaarden, zeenaalden en sepiä.

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

Voorafgaand aan deze proeven is er een biomimetische onderwaterrobot gebouwd aan de [REDACTED] door een studententeam waarin de aanvrager het voorstuwingsdeel ontworpen en ontwikkeld heeft. Deze robot beweegt zich voort door middel van twee laterale undulerende vinnen, Simons et al. (2009). Verder zijn er twee masterthesissen geschreven met een nieuwe test setup om de voortstuwing en stroming rond een undulerende vin aan een vast lichaam in kaart te brengen (Henrion 2010, Vercruyssen 2010). De nauwkeurigheid van seismische metingen en andere omgevings afhankelijke metingen in moeilijk bereikbare gebieden vragen een optimaal bestuurbare, efficiënte en multifunctionele robot. De kennis uit de proeven zal gebruikt worden om de robot de gewenste kinematische eigenschappen te geven. Hiermee zal de controleerbaarheid, stabiliteit en manoeuvreerbaarheid van de volledige robot verbeterd worden. Het eindproduct zal gebruikt worden voor onderwater inspectie en controlerende taken,

kwaliteitsmetingen in verschillende onderwatergebieden, hulp voor duikers bij verschillende werkzaamheden, seismische metingen in ontoegankelijke gebieden, etc. Verschillende bedrijven en instituten o.a. [REDACTED] hebben al interesse laten blijken in het uiteindelijke eindproduct. Het uiteindelijke eindproduct zal het eerste product in zijn soort zijn in Europa.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 10-01-2012 tot 01-01-2013

3. Specificatie diergroepen:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	20	vissen *)	zie specificatie	onder
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	20	vissen *)	zie specificatie	onder
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	10	vissen *)	zie specificatie	onder

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus),
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae),
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.)).

De juiste onderfamilies van deze dieren kunnen op dit moment nog niet bepaald worden aangezien deze van een aantal factoren afhankelijk zijn:

" De mate van patronen op de huid van de dieren. De dieren zullen bij de groothandel geselecteerd worden op de herkenbaarheid van de patronen die ze op hun lichaam hebben om de vin kinematica met behulp van tracking methodes af te leiden. Dit kan individueel binnen een onderfamilie zeer sterk variëren.

" Gezondheid van de dieren. De dieren zullen geselecteerd worden op tekenen van levendigheid en gezondheid in de groothandel. Dieren die gebreken vertonen worden niet gekocht.

" Grootte van de vinnen. Om een vergelijkende studie te kunnen doen tussen de verschillende diersoorten moet aan enkele wetmatigheden van de vloeistofmechanica voldaan worden (bv. zelfde orde Reynoldsnummer). Hierbij speelt de lengte van de vin, flapfrequentie en amplitude een rol, alsook de zwemsnelheid. Vooral de vinlengte is afhankelijk van de leeftijd van de dieren.

" Beschikbaarheid. Zeepaarden, zeenaalden en Sepia zijn niet verkrijgbaar op elk moment. De diversiteit is ook niet altijd even groot in de groothandel. Er zal dus op de voet gevolgd worden waar en wanneer welke soort aanwezig is en of deze geschikt is voor de proeven.

Voor de leeftijdscategorieën kan volgende indeling aangehouden worden:

Zeepaarden: adult
Zeenaalden: adult
Sepia: hatchling - juvenile, i.e. mantellengte tussen 5 - 10 cm, Oestmann et al (1997).

De zeepaarden en zeenaalden zullen gekocht worden in de volwassen fase. De Sepia zullen naar de aquaria worden gehaald in de hatchling fase zodat ze in hun ontwikkeling kunnen wennen aan de omgevingsfactoren van het aquarium waarin ze zullen gehouden worden. Dit maakt de dieren beter bestand tegen stress en vergroot hun kans op een langer leven, Oestmann et al (1997). De Sepia worden verkregen via Jan van der Veen, een marinebioloog werkzaam in Het Arsenaal, Vlissingen. Hij heeft jarenlange ervaring met de houderij van Sepia.

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

Deze dieren zijn gekozen om hun unieke lichaamsbouw en voortbeweging zoals reeds aangegeven in paragraaf 1. De robot wordt gekenmerkt door een star lichaam met laterale undulerende vinnen. Zeepaarden, zeenaalden en zeekatten hebben een bijna star lichaam met daaraan een of meerdere

vinnen gehecht. Het grootste deel van de voorstuwing van het zeepaard gebeurt met de dorsale vin. De dieren zijn relatief klein wat het faciliteren, trainen en experimenteren in relatief kleine omgevingen mogelijk maakt zodat dit in het [REDACTED] kan gebeuren. De bovengenoemde dieren zijn bovendien trainbaar, wat nodig is om nauwkeurige en diverse experimenten mee te doen (Roos et al. (2009), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008), Komak et al. (2005)). De dieren zullen voornamelijk gehaald worden bij [REDACTED] waar ze al gewend zijn aan beweging, voederen en mensen.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Een poweranalyse kan niet worden uitgevoerd aangezien geen voorgaande data beschikbaar zijn om deze analyse goed uit te kunnen voeren. We gaan ervan uit dat met een zelfde dier meerdere zwemexperimenten kunnen uitgevoerd worden. Aangezien er onderlinge verschillen zullen zijn tussen dieren is een aantal van 5 dieren genoeg om statistisch afdoende en publiceerbare resultaten mee te verkrijgen, ook als de spreiding aanzienlijk is. Dit verwachten we omdat de proeven slechts beperkt controleerbaar zijn aangezien de dieren vrij mogen/moeten zwemmen. Indien er sterfgevallen zijn zullen deze dieren gebruikt worden als model voor weerstandsmetingen. Het aantal benodigde dieren voor de proef hebben wij vastgesteld op minimaal 3 - 5, optimaal tussen 5 en 10, en is tot stand gekomen middels onderstaande redenering:

1) 30-50 % mortaliteit door verplaatsing van de dieren van de groothandel naar het leef aquarium. Dit hebben wij ondervonden bij eerdere bestellingen van zeepaarden waarbij de overplaatsing volgens strikte regels is verlopen. (De dieren werden in speciale anti stress zakken (zwarte wand) met zuurstof vervoerd in temperatuurdozen. Bij aankomst werden de waterkwaliteiten van het water in de zakken gemeten. Het aquariumwater wordt op dezelfde temperatuur en hetzelfde zoutgehalte gebracht zodat de aanpassing zo goed mogelijk kan verlopen.

2) Het aantal dieren nodig voor publiceerbare resultaten over de proeven die wij willen doen ligt minimaal op 3-5 (mondelinge communicatie met David Lentink). Dit betekent dat 5 zeepaarden van de overgebleven zeepaarden (die goed door de verplaatsing zijn gekomen) goed moeten zwemmen. Wij hebben gemerkt bij proefmetingen dat van de dieren die overblijven, 20 tot 30 % niet de gewenste mobiliteit en activiteit vertonen. Om andere sterftes op te vangen (ouderdom, ongekende oorzaken) zijn wij op een aantal van 20 dieren gekomen.

3) Een derde reden voor 20 proefdieren is het feit dat deze dieren maar zeer zelden kunnen aangeschaft worden. Dit stelt ons in staat om dan ook meteen genoeg dieren aan te schaffen voor onze experimenten, alle bovengenoemde zaken in acht genomen.

De dieren die nu al in het leef aquarium zitten blijven daar inzitten en in hun aquarium worden locomotie experimenten uitgevoerd. De nieuwe dieren komen in een extra nieuw ontworpen aquarium.

De reden dat er 10 nieuwe sepia worden gehaald komt door het feit dat een groot aantal sepia een natuurlijke dood is gestorven voor de eigenlijke proef kon starten. De proef kon niet eerder gestart worden aangezien de sepia aan bepaalde eisen moeten voldoen vooraleer de vin en lichaamskinematica kan gemeten worden (het lichaam en de vinnen moeten groot genoeg zijn om accurate beelden van te kunnen maken, er moeten bepaalde patronen op de vinnen zichtbaar zijn voor een goede tracking, de dieren worden getraind op experimentele condities zodat de dieren een minimum aan stress ondervinden). In het bijgevoegde document kan een gedetailleerdere verklaring voor de gestorven dieren gevonden worden. Dit is ook gecommuniceerd met Rob Steenmans.

4.d. Herkomst:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)

A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in

Nederland

zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)

A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in

Nederland

zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))

A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in

Nederland

Toelichting:

De dieren zullen gekocht worden bij [REDACTED]. Indien de dieren niet voorradig zijn bij deze groothandel dan zullen ze elders aangeschaft worden. Dit hangt af van welke dieren waar en wanneer voorradig zijn. Dit zal gebeuren in overleg met proefdierdeskundige [REDACTED] en biotechnicus [REDACTED].

5.a. Accommodatie: Elders

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De zeepaardjes en zeenaalden zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend water op een constante temperatuur van 20 graden Celsius en een constante zoutconcentratie van 35 p.p.t of zeewater (Roos et al. 2009, Ashley-Ross 2002). De Sepia zullen gehouden worden in een aquarium (250 l) met circulerend zeewater op een temperatuur van 16-17 graden Celsius (persoonlijke communicatie Jan Van der Veen). Beide aquaria worden uitgerust met een filter systeem bestaande uit: 5 kg levend steen, een eiwitafschuimer, actieve kool en UV filtering. De temperatuurvoorziening bestaat uit een TECO TC-15 + pomp Eheim 1000 om de temperatuur in beide aquaria constant te houden. Boven de twee aquaria zal een Philips Daylight Sono - 6000 K, 90 cm T8 gehangen worden om het juiste licht te voorzien. Voor de zeepaarden zal er in het aquarium bepaalde ankerpunten worden voorzien in de vorm van kunststof horrengaas of kunststof planten. Voor Sepia zullen schuilplaatsen voorzien worden. Er zal een voorraad bak van 250 l zeewater voorzien worden voor verversing of overplaatsing van dieren. Deze bak zal voorzien zijn van een luchtpompje + heater. Om de waterkwaliteit te reguleren worden de ammonia, nitriet, nitraat, pH en zoutconcentratie regelmatig gemeten om aan de nodige vereisten te voldoen, Oestmann et al (1997).

5.c. Voeding:

De zeepaardjes en zeenaalden zullen meerdere keren per dag (minimaal twee) gevoerd worden met Neomysis vulgaris, Roos et al. (2009) of Mysis en Artemia. Er zal getracht worden om de dieren te laten wennen aan dood, ingevroren voedsel. Dit heeft als voordeel dat er geen eigen kweekprogramma voor levende Mysis of Artemia opgezet moet worden, wat zeer arbeidsintensief is en geen onderdeel van het onderzoek. De Sepia zullen eenmaal per dag gevoederd worden met garnalen (Crangon crangon) of krabben (Carcinus maenas) (Oestmann et al (1997), Jozet-Alves et al. (2008)).

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Aankomst

Alle dieren zullen na hun aankomst 3 weken in een aquarium worden gehouden om aan de omstandigheden te wennen, hetgeen langer is dan toegepast door Alves et al. (2007) en Oestmann et al (1997).

Training

De dieren zullen overgeplaatst worden van hun aquarium waarin ze leven naar een speciaal aquarium dat voldoet aan de eisen van het experiment. Deze eisen zijn afhankelijk van het beoogde doel van de meting en zullen in hoofdzaak de afmetingen van de aquaria beïnvloeden (bv. als voorwaarts zwemmen onderzocht wordt, zal een lang smal aquarium gebruikt worden.) Indien de te onderzoeken bewegingen niet spontaan gebeuren, zullen de dieren getraind worden. Dit is noodzakelijk aangezien de dieren door een zekere meetsectie moeten bewegen om het maken van gedetailleerde high speed beelden mogelijk te maken. De camera's kunnen niet simultaan verplaatst worden met de beweging van het dier. Het

trainen van de zeenaalden en zeepaardjes zal gebeuren door hen voedsel te geven op bepaalde plaatsen in het test aquarium, Roos et al. (2009). Op deze manieren kunnen bewegingen uitgelokt worden, zoals van A naar B zwemmen, zowel voorwaarts als naar onder of boven. De vinkinematica bij draaibewegingen kan opgenomen worden door de dieren voedsel aan te bieden op een plaats waarvoor ze een draaibeweging moeten maken. Sepia kunnen op diverse manieren getraind worden. Een eerste techniek is hen laten reageren op lokale verstoringen in het water tijdens de onvolwassen fase, Komak et al. (2005). Sepia kunnen ook getraind worden op plaats herkenning of repetitieve reacties op visuele stimuli (Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)). Zo kunnen we de sepia van een locatie A naar een locatie B laten gaan.

Experiment

In de eerste plaats gaan we gebruik maken van de spontane beweging van de dieren om onze meetdata te verkrijgen. Indien de vooropgestelde bewegingen niet door spontaan zwemmen gegenereerd worden, zullen we terugvallen op getrainde bewegingen zoals hierboven beschreven. Het experiment bestaat uit volgende onderdelen:

1. Algemene locomotie data: snelheden en acceleraties kunnen afgeleid worden uit high speed camerabeelden over het afgelegde pad. Hieruit kan een netto kracht afgeleid worden.
2. 3D vinkinematica vastleggen door middel van high speed camerabeelden bij verschillende manoeuvres: voorwaarts zwemmen, stijgen, dalen, start- en stopmanoeuvres, verschillende draaibewegingen (rollen, gieren en stampen) en hovering. Rollen is draaien rond de longitudinale as, stampen rond de laterale as en gieren rond de top as.

6.b. Mate van ongerief:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)	A. Gering
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)	A. Gering
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))	A. Gering

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

Bij het vervoer van [REDACTED] naar de aquaria van [REDACTED] wordt hooguit gering ongerief verwacht. [REDACTED] is gespecialiseerd in het vervoer van vissen naar zoos in Europa. We verwachten geen ongerief tijdens de houderij van de dieren. Sepia zijn over het algemeen stressgevoelige dieren. Aangezien de sepia bij [REDACTED] gekweekt zijn zullen deze dieren minder stressgevoelig zijn omdat ze opgegroeid zijn in een aquarium in een groothandel. De proeven worden zo opgebouwd zodat stress en ongerief zoveel mogelijk worden vermeden en de dieren geleidelijk aan de experimentele omstandigheden kunnen wennen. Het ongerief bij de locomotieexperimenten is gering aangezien het vrij bewegen van de dieren zal bekeken worden. De stress van de dieren door training wordt mogelijk enigszins verhoogd omdat er bij extra licht getraind zal worden. De training op zich zal geen extra stress leveren aangezien het maken van een bepaalde beweging een keuze van het dier zelf is en hoogstens uitgelokt kan worden. Zeepaarden en zeenaalden zijn redelijk goed tegen bestand tegen extra licht, echter bij Sepia kan er meer stress opgewekt worden. Hierop zal snel worden ingespeeld door gedragswaarnemingen. Ook het verplaatsen van dieren van hun leef aquarium naar het testaquarium kan een zekere stress opleveren. Dit zal beperkt worden door telkens een ander exemplaar voor een test te gebruiken zodat niet enkelingen meer stress hebben dan anderen. Het nemen van hoge snelheidsbeelden voor de 3D vinkinematica zal gestart worden nadat de dieren gewend zijn aan mensen en de omgeving, waardoor de stress zal afnemen. Ook zal de algemene gezondheid van de dieren nauwlettend in het oog gehouden worden.

Vervoer:

Gering-matig/Matig ongerief: [REDACTED] is gespecialiseerd in het vervoer van vissen naar verschillende zoos in Europa. Stress kan aanwezig zijn bij de sepia.

Houderij:

Geen ongerief: De dieren zullen in een natuurlijk habitat gehouden worden zoals in paragraaf 5 aangegeven.

Training:

" Voorwaarts zwemmen: Geen ongerief

Dit doen de dieren in hun natuurlijke omgeving ook.

" Hovering: Geen ongerief

Dit doen de dieren in hun natuurlijke omgeving ook.

" Bewegingen: Geen ongerief

Hun hoge mate van manoeuvreerbaarheid is juist de reden voor selectie. Een bepaalde beweging kan uitgelokt worden m.b.v. voedsel aan te bieden, echter de keuze om een beweging te maken ligt bij het dier zelf. Verhoogde stress bij Sepia is nog niet gerapporteerd in voorgaande studies met getrainde sepia (Komak et al. (2005), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)).

" Invloed van extra licht: Gering ongerief

Er kan een zekere stress ontstaan bij het zwemmen van de dieren onder omstandigheden met extra licht. Er zal een stapsgewijze gewenning aan extra licht worden doorgevoerd. Er zal extra aandacht besteed worden bij het plaatsen van extra licht bij experimenten met de sepia aangezien zij meestal in donkere plaatsen leven.

Experiment

" Bewegingen: Geen ongerief

Hun hoge mate van manoeuvreerbaarheid is juist de reden voor selectie. Een bepaalde beweging kan uitgelokt worden m.b.v. voedsel aan te bieden, echter de keuze om een beweging te doen ligt bij het dier zelf. Verhoogde stress bij sepia is nog niet gerapporteerd in voorgaande studies met getrainde sepia (Komak et al. (2005), Alves et al. (2007), Jozet-Alves et al. (2008)).

" Invloed van speciale lichten en camera's: Gering ongerief

Er kan een zekere stress ontstaan bij het zwemmen van de dieren onder omstandigheden met extra licht. Er zal een stapsgewijze gewenning aan extra licht worden doorgevoerd. Er zal extra aandacht besteed worden bij het plaatsen van extra licht bij experimenten met de sepia aangezien zij meestal in donkere plaatsen leven.

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

Anesthesie:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)
zeenaald (Syngnathidea - Syngnathinae)
zeekat (Sepiidea - Sepia officinalis (juv.))

A. Niet toegepast (geen aanleiding).
A. Niet toegepast (geen aanleiding).
A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

zeepaard (Syngnathidea - Hippocampus)
aanleiding bestaat.

A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen

zeenaald (*Syngnathidea* - *Syngnathinae*)
aanleiding bestaat.

A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen

zeekat (*Sepiidea* - *Sepia officinalis* (juv.))
aanleiding bestaat.

A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen

De belangrijkste maatregel die genomen is om het ongerief tot een minimum te beperken is om dieren te kiezen die van nature de bewegingen maken die wij willen onderzoeken. Hierdoor is het ongerief door het opleggen van bepaalde zwemregimes en bewegingen minimaal. De dieren zijn gekozen omdat ze zeer goede manoeuvreerbaarheid vertonen en redelijk goed trainbaar zijn.

De locomotie experimenten worden uitgevoerd in het leef aquarium omdat we gemerkt hebben dat er hevige stress reacties ontstaan bij overplaatsing van de dieren van het leef aquarium naar het testaquarium. De dieren ondervinden geringe stress bij het uitvoeren van locomotie experimenten in het leef aquarium aangezien hier alleen het benodigde licht voor de camera's geleidelijk aan wordt opgevoerd en ze niet meer hoeven verplaatst te worden.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

zeepaard (*Syngnathidea* - *Hippocampus*)

Het dier is na de proef in leven gelaten.

zeenaald (*Syngnathidea* - *Syngnathinae*)

Het dier is na de proef in leven gelaten.

zeekat (*Sepiidea* - *Sepia officinalis* (juv.))

Het dier is na de proef in leven gelaten.

Toelichting:

Gezonde dieren zullen na de proef in hun leefaquaria gehouden worden voor hergebruik. Indien de proef ten einde is, zullen gezonde dieren overgedragen worden aan een dierentuin of vergelijkbare instelling. Indien onverhoopt het dier niet voor hergebruik of overdracht in aanmerking komt, zal het dier gedood worden na het einde van de proef en zal er anatomisch onderzoek plaatsvinden. De zeepaarden en zeenaalden worden gedood door een overdosis tricaine methane sulfonate (MS-222; 5 g/l) in zeewater. De *Sepia* worden gedood door een snelle koeling in ijskoud zeewater met een 10% oplossing van magnesium chloride in zeewater, Oestmann et al (1997). Er zal echter altijd getracht worden het maximale aantal dieren in leven te houden.

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

Vervanging:

Het bestuderen van de locomotie van zeepaarden, zeenaalden en *sepia* is niet mogelijk in aquaria waar de dieren verblijven, noch in een groothandel of in een zoo. De omstandigheden in deze aquaria, (hoeveelheid licht, grootte aquaria, omgevingsfactoren zoals luchtvochtigheid, warmte, etc.) zijn niet optimaal om de beoogde proef in uit te voeren.

Een op de natuur geïnspireerde onderwaterrobot die het zwemgedrag van zeepaarden, zeenaalden of *sepia* benadert is momenteel geen alternatief voor dierproeven aangezien die er nog niet is. De reden hiervoor is dat ze eerst uitontwikkeld, getest en gevalideerd moeten worden met de data die we met deze proeven willen verkrijgen.

Echter, het vernieuwende onderzoek dat met onze opstelling gedaan kan worden en fundamentele inzichten die het zal opleveren, kunnen gebruikt worden om numerieke simulaties en robotvissen te verbeteren waardoor deze waardevoller worden en op termijn een alternatief kunnen zijn voor een aantal dierproeven.

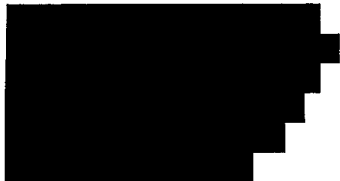
Verfijning:

Indien de dieren te veel last ondervinden van het licht zal er geprobeerd worden met minder licht te werken. Als de op maat gemaakte testaquaria voor te veel stress zorgen bij de dieren zal getracht worden in grotere aquaria te testen. Dit heeft als consequentie dat het maken van de beoogde hogesnelheidsbeelden veel lastiger wordt aangezien de meetsectie wordt vergroot. Bij de keuze van de camera's wordt echter extra aandacht besteed aan de lichtgevoeligheid van de sensor zodat met minder extra licht kan gewerkt worden.

Vermindering:

Het aantal dieren nodig voor de proef hangt heel sterk af van de mate waarin goede data kunnen verkregen worden van de dieren. Dieren die minder stressgevoelig en zeer beweeglijk zijn zullen waarschijnlijk gemakkelijkere proefdieren zijn dan stressgevoeligere dieren. Om niet een paar dieren te overbelasten en de stress te minimaliseren is het noodzakelijk meerdere dieren te houden zodat de zwemproeven niet steeds met dezelfde dieren binnen een onderfamilie moeten gehouden worden. Een aantal van tien dieren per soort, waarin bepaalde dieren beter zullen presteren dan andere, is genoeg om publiceerbare resultaten mee te behalen. De verschillende prestaties van verschillende dieren van dezelfde onderfamilie kunnen hierdoor vergeleken worden.

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



Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2011027.e (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					37	2	1	01					
zeepaard (<i>Syngnathidea</i> - <i>Hippocampus</i>)	1	89	1	20						01	1	1	3
zeenaald (<i>Syngnathidea</i> - <i>Syngnathinae</i>)	1	89	1	20						01	1	1	3
zeekat (<i>Sepiidea</i> - <i>Sepia officinalis</i> (juv.))	1	89	1	10						01	1	1	3

Uw aanvraag 2011027.a, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de KC de status: 'Wijzigen' gekregen.

De DEC is van mening dat het doel van de proef opweegt tegen het te verwachten geringe ongerief dat de dieren ondergaan. Voorafgaand aan een definitief advies heeft de DEC de volgende vragen en opmerkingen:

De DEC verzoekt u de dieren (i.v.m. kwetsbaarheid door vervoer) minimaal 3 weken te laten adapteren na aankomst, voordat ze weer overgeplaatst worden naar een andere bak om de metingen te doen. Bovendien acht de DEC het wenselijk de dieren na de proef in leven te laten voor hergebruik of ze te schenken aan (bijv.) een dierentuin.

Na aanpassing zal de proef door de secretaris van de DEC worden afgehandeld.

Uw aanvraag 2011027.b, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de Secretaris DEC de status: 'Positief advies na behandeling KC' gekregen.

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

Met vriendelijke groet,


Secretaris DEC

Uw aanvraag 2011027.b, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de PD 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 'bewerken aanvraag', 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,


Proefdierdeskundige

Uw aanvraag 2011027.c, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de Secretaris DEC de status: 'Positief advies na behandeling KC' gekregen.

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

Met vriendelijke groet,


Secretaris DEC

Uw aanvraag 2011027.c, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de PD de status: 'Wijzigen' gekregen.

Het gebruik van extra sepia's kan in de wijziging worden vermeld. Tevens kan een korte verklaring gegeven worden waarom de onderzoeksvragen met de eerder beschikbare sepia's nog niet zijn beantwoord.

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 'bewerken aanvraag', 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 wordt de wijziging door de kleine commissie beoordeeld.

Met vriendelijke groet,



proefdierdeskundige

Uw aanvraag 2011027.d, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de KC de status: 'Wijzigen' gekregen.

De DEC is van mening dat het doel van de proef opweegt tegen het te verwachten geringe ongerief dat de dieren ondergaan. Voorafgaand aan een definitief advies heeft de DEC de volgende (redactionele) opmerkingen:

U geeft bij 4.c. (Toelichting voor het aantal gebruikte dieren) aan dat er 30-50% mortaliteit is tijdens het transport. Bij 6.c. (bronnen van ongerief) geeft u voor het transport gering ongerief aan. Dit lijkt de DEC onjuist. Hoewel het transport wettelijk gezien geen deel uitmaakt van het experiment, verzoekt de DEC u de formulering bij 6.c. aan te passen, aangezien de DEC dit ongerief hoger schat.

Daarnaast geeft u bij 4.c. aan, dat u de waterkwaliteit in het aquarium gelijkstelt aan de situatie in de transportzak. De DEC gaat er van uit, dat dit wellicht voor de temperatuur geldt, maar niet voor ammonium en nitriet, als dit tijdens transport te hoog blijkt en zij verzoekt u dit correct te vermelden.

Daarnaast verzoekt de DEC u bij 5.b. (huisvesting & verzorging) de temperatuur waaronder de sepia's worden gehouden correct te vermelden, aangezien u in bijgevoegd verslag aangeeft, dat u de sterfte bij de sepia's onder andere wilt vertragen door verlaging van de temperatuur naar 16-17 graden.

Tevens verzoekt de DEC u bij 10 (direct betrokkenen) de biotechnici toe te voegen.

Tenslotte verzoekt de DEC u te tekst bij 5.a. (Accommodatie) te verwijderen, aangezien deze ook bij 5.b. staat.

Na aanpassing zal de proef door de secretaris van de DEC worden afgehandeld.

Uw aanvraag 2011027.e, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de KC de status: 'Positief advies' gekregen.

Met vriendelijke groet,



proefdierdeskundige