

## Feather pecking and coping style in the laying hen: a multidisciplinary approach

*Programme co-ordinator:* Dr. ir. H.J. Blokhuis (WUR)  
*Programme period* 1999 - 2003

### Projects:

- Physiological characteristics of feather pecking  
Project: 806.46.051  
Projectleader: Dr. S.M. de Korte (WUR)  
PhD-student: Ir. Y.M. van Hierden (1999 – 2003)
- *Behavioural characteristics of feather pecking*  
Project: 806.46.052  
Projectleader: Dr. P. Koene (WUR)  
PhD-student: Ir. T.B. Rodenburg (1999 – 2003)
- *Ontogenetic determinants of feather pecking in laying hens*  
Project: 806.46.053  
Projectleader: Dr. T.G.G. Groothuis (RUG)  
PhD-student: Drs. B. Riedstra (1999 – 2003)
- *Genetic analysis of feather pecking*  
Project: 806.46.054  
Projectleader: Dr. J.J. van der Poel (WUR)  
PhD-student: Ing. A.J. Buitenhuis (1999 – 2003)

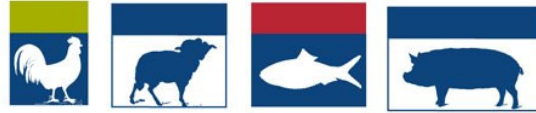
### Summary

Feather pecking is one of the major welfare problems of commercially kept poultry. Birds may be severely pecked and even pecked to death. Remedial measures currently practised by the poultry industry (e.g. beak trimming, dim light) have associated welfare problems. Moreover, the introduction of otherwise animal-friendly alternatives to battery cage housing of laying hens is seriously hampered by the increased risk of feather pecking.

It is generally accepted that either pecking is a form of redirected pecking, belonging to either foraging, explorative or dust bathing behaviour. Therefore, most studies of feather pecking have analysed to what extent specific aspects of the environment influence the redirection of pecking towards other birds. However, no single causal factor was identified and clearly the development of feather pecking reflects multi-factorial processes.

Larges inter-individual differences in the propensity for feather pecking are often reported. Also different genetic lines of laying hens may show profound differences in this behaviour. These data indicate that apart from external conditions also individual characteristics of coping with these conditions (coping style) contribute significantly to feather pecking. This urges for a better understanding of these characteristics and their (onto)genetic basis.

The goal of this proposal is to gain knowledge of behavioural and physiological bird characteristics that predispose for feather pecking, their ontogenetic plasticity and genetic background. To this end we integrate the expertise of the four most important applied and fundamentally oriented research groups in The Netherlands working on the ethology, physiology, ontogeny and genetics of fowl. In an integrated way four PhD projects will focus on feather pecking and coping style, each from its own perspective. The projects are integrated in the groups' ongoing work and, through national and international collaboration, complement ongoing work on feather pecking at home and abroad.



To this end we will use two genetic lines of laying hens which are predisposed to show high and low levels of feather pecking and associated differences in coping style. This represents a unique opportunity to study this abnormal behaviour but it also offers an immediate advantage in our pursuit of the above objectives.

The results contribute to the understanding of the mechanisms and processes involved in the development and expression of feather pecking and stress mechanisms in individual birds and its genetic control. This knowledge is essential to develop new strategies (for farmers as well as breeders) to prevent feather pecking that replaces beak trimming and enhances poultry welfare.

## Results

### project 806.46.051

Vraagstelling: Is er een causaal verband tussen corticosteroiden niveau en verenpikken.

Experiment: Het effect van mineralocorticoid receptor (MR) blokkade (d.m.v. spironolactone) op de mate van verenpikken in beide lijnen.

Voorlopige conclusie is dat MR blokkade geen significant effect heeft op de gemiddelde niveaus van verenpikken in de HFP en LFP lijn op 14 en 28 dagen leeftijd. Verdere statistische analyse loopt nog. Er zal o.a. een zogenaamde 'sequence analysis' worden uitgevoerd, waarbij gekeken wordt welke gedragselementen het meest vooraf gaan en volgen op verenpikgedrag. Hiermee zou een uitspraak gedaan kunnen worden over de onderliggende motivatie voor verenpikken.

Verder zullen over lijnen heen dieren worden ingedeeld op hoog en laag verenpikken op basis van de mediaan (per leeftijd). Vervolgens zal weer gekeken worden of er een effect is van spironolactone behandeling op verenpikken en andere gedragselementen.

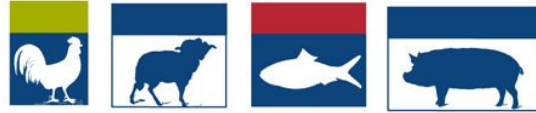
Vraagstelling: Is er een causaal verband tussen centrale serotonine en dopamine afgifte en verenpikken?

Experiment: Invloed van serotonerge afgifte remmer op verenpikken.

Om dit experiment te kunnen uitvoeren werden er eerst pilot experimenten uitgevoerd. Recent is aangetoond dat kuikens van de hoog en laag verenpiklijn (resp. HFP en LFP) na blootstelling aan een stressor niet alleen verschillen in corticosteron respons, maar ook in serotonine (5-HT) en dopamine (DA) turnover in de hersenen. HFP kuikens hebben zowel lagere plasma corticosteron niveaus als lagere 5-HT en DA turnover in de hersenen dan LFP kuikens. Er zijn aanwijzingen dat het serotonerge en het dopaminerge systeem betrokken zijn bij de ontwikkeling en uitvoering van (abnormaal) gedrag in mens en (landbouwhuis)dier. Beide systemen spelen bijvoorbeeld een rol bij stereotiep gedrag en OCD (Obsessive Compulsive Disorder). Verenpikken bij papegaaien (het uittrekken van eigen veren) is een voorbeeld van dergelijk abnormaal gedrag. Behandeling van deze dieren, met stoffen die inwerken op het serotonerge (en dopaminerge) systeem, zogenaamde re-uptake blokkers (SSRI's), blijkt uiterst effectief in het verminderen van verenpikken. Verenpikken (pikken naar de veren van soortgenoten) bij leghennen vertoont wat betreft (mogelijke) oorzaken en vorm van het gedrag sterke overeenkomsten met het verenpikken bij papegaaien (stereotiep, dwangmatig pikken, nauwelijks meer reageren op prikkels uit de omgeving). Dit leidt tot de hypothese dat het serotonerge systeem in de hersenen van leghennen betrokken is bij het ontstaan en uitvoeren van verenpikken.

In ratten en muizen is aangetoond dat een verschil in coping strategie tussen individuen o.a. het gevolg is van een verschil in de balans tussen 5-HT productie en het aantal c.q. gevoeligheid van (pre- en postsynaptische) 5-HT receptoren in de hersenen (er zijn verschillende typen 5-HT receptoren en vele subtypen).

Met de stof S-15535 kan op een hele specifieke en robuuste manier het serotonerge systeem in de hersenen worden gemanipuleerd. S-15535 verlaagt bij acute toediening de productie cq turnover van 5-HT in de hersenen (door binding aan specifieke 5-HT receptoren). Verder heeft S-15535 een anxiolytische werking en heeft het een effect op sociaal gedrag



Er zijn sterke aanwijzingen dat dieren van de HFP lijn een proactieve copingstrategie hebben. Deze aanname, in combinatie met het feit dat HFP dieren een lagere serotonine-turnover hebben leidt tot de hypothese dat bij toediening van S-15535 aan HFP dieren (door een nog verdere verlaging van de 5-HT turnover), deze nog zich nog proactiever zullen gaan gedragen en wellicht meer zullen gaan verenpikken.

Om de effectieve dosis van S-15535 te bepalen werden twee gedragstesten (pilot experimenten) uitgevoerd: “manual restraint” en “Social reinstatement test (“runway”)”

#### Manual restraint.

Op dag 28/29 leeftijd werden 60 HFP kuikens subcutaan geïnjecteerd met S-15535 (0, 0.4, 0.8, 4.0 en 8.0 mg/kg lichaamsgewicht; n=12 per dosering). Alle 5 dieren per kooi kregen een verschillende dosering S-15535. Een half uur na injectie werden geïnjecteerde kuikens tegelijkertijd uit de kooi gehaald en 5 minuten blootgesteld aan restraint stress (manual restraint). Tijdens de manual restraint test werd het aantal vocalisaties en het aantal keren verzet gescoord. Direct aansluitend werden de dieren gedecapiteerd en de hersenen verwijderd. In de hersenen zal (in de loop van 2002) de serotonine turnover worden gemeten.

HFP kuikens behandeld met 4.0 en 8.0 mg/kg S-15535 hadden een significant groter aantal keren verzet en vocalisaties en een significant korte latentietijd tot eerste keer verzet en vocaliseren t.o.v de overige doseringen ( $p < 0.001$ ). Het aantal keren verzet en de latentietijd tot eerste verzet verschilde niet tussen 0, 0.4 en 0.8 mg/kg. Het aantal vocalisaties was significant hoger in de 0.4 en 0.8 groep t.o.v van de controle groep ( $p < 0.001$ ).

De resultaten duiden erop dat HFP dieren inderdaad proactiever worden bij behandeling met S-15535. De resultaten van de turnover metingen worden in het voorjaar van 2002 bekend.

#### Social reinstatement test (“runway”)

Op dag 35/36 leeftijd werden nogmaals 60 HFP kuikens subcutaan geïnjecteerd met S-15535 (0, 0.4, 0.8, 4.0 en 8.0 mg/kg lichaamsgewicht; n=12 per dosering) Alle kuikens per kooi kregen een andere dosering S-15535. 30 minuten na injectie werd een kuiken getest in de ‘runway’.

In de social runway wordt een kuiken gedurende 1 minuut individueel in een startbox geplaatst. De startbox bevindt zich aan ene zijde van een 1½ meter lange “runway”. Aan de andere kant van de “runway” bevindt zich de “goalbox” waarin zich 3 à 4 kuikens bevinden. Na 1 minuut krijgt het kuiken toegang tot de runway. De latentietijd tot het verlaten van de startbox en de tijd tot het bereiken van de goalbox wordt gemeten (en geldt als maat voor sociale motivatie). Tevens worden de latentietijd tot vocaliseren en het aantal vocalisaties gemeten. De maximale tijdsduur van de test is 6 minuten (1 minuut ‘start box’ en 5 minuten in de runway). Na afloop van de test werd het testkuiken teruggeplaatst in de thuishooi. De voorlopige analyse van de resultaten laten zien dat behandeling met S-15535 geen effect heeft op het gedrag in de runway.

*Vraagstelling:* Is er een causaal verband tussen centrale serotonine en dopamine afgifte en verenpikken?

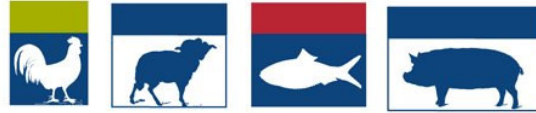
*Experiment:* Invloed van dopamine receptor agonist op gedrag en verenpikken.

#### Apomorphine pilot

Apomorphine (APO) is een dopamine agonist, die bij acute toediening een dosis-afhankelijke gedragsrespons laat zien in verschillende diersoorten. De gedragsrespons kenmerkt zich door stereotype bewegingen. In verscheidene experimenten is aangetoond dat injectie met APO bij vogels stereotiep pikgedrag (naar o.a. tenen, kammen, omgeving) en stereotiep lopen tot gevolg heeft.

Proactieve copers laten een significant grotere gedragsrespons zien na apomorphine injectie dan reactieve dieren.

Zoals al eerder vermeld hebben HFP dieren een significant lagere DA-turnover na een stressor dan LFP dieren. Het vermoeden bestaat dat derhalve de HFP dieren een gevoeliger DA receptor systeem hebben. In een toekomstig experiment willen we de hypothese toetsen dat proactieve HFP kuikens gevoeliger zijn voor APO (dwz een grotere pikrespons laten zien) dan reactieve LFP kuikens en dat zij hun pikgedrag meer op elkaar zullen richten dan LFP kuikens.



Uit verschillende studies is gebleken dat bij kuikens 0.5 mg/kg lichaamsgewicht de meest effectieve dosering APO is voor een optimale gedragsrespons.

In deze pilot wilden we dan ook voornamelijk bekijken hoe de gedragsrespons op APO injectie er precies uitziet en of het mogelijk is het gedrag direct te scoren of dat video-opnamen nodig zijn. Voor deze pilot hebben 20 kuikens (leeftijd 35 dagen) een intramusculaire injectie (borstspier) met APO gekregen (5 dieren per dosering; 0, 0.25, 0.5 en 1.0 mg/kg lichaamsgewicht). Ze werden na injectie teruggeplaatst in de groep en hun gedrag werd m.b.v. een videocamera vastgelegd (half uur per kooi). Het uitwerken van de videobanden is nog niet afgerond.

#### **Publications:**

- Van Hierden, Y.M. et al., 2002a. Adrenocortical reactivity and central serotonin and dopamine turnover in young chicks from a high and low feather pecking line of laying hens. *Physiology and Behavior*, in press.
- Van Hierden, Y.M. et al., 2002b. The development of feather pecking behaviour and targeting of pecking in chicks from a high and low feather pecking line of laying hens. *Applied Animal Behaviour Science*, submitted.
- Van Hierden, Y.M. et al., 2001c. Behavioral and neuroendocrine characteristics of chicks from a high and low feather pecking line of laying hens. *Proceedings of the 6th European Symposium on Poultry Welfare, Zollikofen, Zwitserland*.

#### **project 806.46.052**

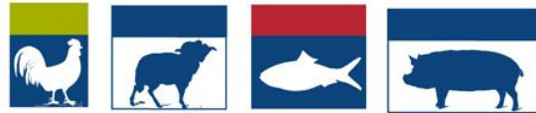
In dit deelproject wordt onderzoek gedaan naar de relatie tussen gedragskenmerken en verenpikken. De voornaamste aandacht ligt bij de relatie tussen verenpikken en omgaan met stress en frustratie. Voor dit deelproject wordt gebruik gemaakt van dezelfde kippenlijnen als in andere deelprojecten: de veel verenpikkende HFP lijn en de weinig verenpikkende LFP lijn.

#### Taak 1.

Sociaal gedrag en verenpikken: welke test kan het beste gebruikt worden om verenpikken te meten? Er is gekeken naar de ontwikkeling van het pikgedrag in de thuishok en een drietal verenpiktesten zijn met elkaar vergeleken: twee sociale testen, één met een bosje veren en één zonder bosje veren en één individuele test met een bosje veren. Het lijkt erop dat de sociale testen het meest bruikbaar zijn om verenpikken te meten. In de individuele test waren het juist de LFP dieren die meer op het bosje veren pikken. Sociale aspecten zijn blijkbaar erg belangrijk bij de ontwikkeling van verenpikken. Een ander opvallend resultaat was dat HFP dieren bij herhaling van de individuele test steeds meer gingen vocaliseren, terwijl het aantal vocalisaties bij de LFP dieren juist afnam. In 2001 is er een begin gemaakt aan een artikel over dit experiment. Dit artikel zal begin 2002 worden voltooid.

Taak 2./4. Verenpikken en reactie op frustratie in de veel verenpikkende (HFP) en de weinig verenpikkende (LFP) lijn in Skinnerboxen en dubbele loopgang. In zogenaamde Skinnerboxen worden de verschillen in reactie op frustratie tussen de gebruikte HFP en LFP lijnen geanalyseerd. Het eerste experiment liet zien dat de kippen van de LFP lijn tijdens frustratie meer op het afgedekte voerbakje en de knoppen pikten dan dieren van de HFP lijn. Als er een bosje veren werd aangeboden in Skinnerbox, pikten de dieren hier nauwelijks op. De gegevens van dit experiment zijn in 2001 beschreven in een artikel. Dit artikel is in januari 2002 aangeboden ter publicatie. Ook zijn experimenten gedaan met HFP en LFP dieren uit verschillende opgroeicondities, afkomstig uit project C.

Naast de Skinnerbox-experimenten zijn experimenten gedaan in de dubbele loopgang. De test is gebaseerd op de frustratie-theorie van Amsel: het ontbreken van een beloning leidt tot een hogere loopsnelheid in het tweede deel van de loopgang, het zogenaamde frustratie-effect. In een eerste experiment is de eerste reactie op de loopgang van 30 HFP en 30 LFP kippen bestudeerd. LFP dieren begonnen sneller met grondpikken en pikten meer. Hierna zijn 10 dieren per lijn getraind om voor een voerbeloning de loopgang door de lopen. Hierbij viel op dat LFP dieren sneller het trainingscriterium



haalden dan HFP dieren. Tijdens frustratie troffen de dieren in de voerbak geen beloning aan. Het frustratie-effect op loopsnelheid is nog niet teruggevonden bij deze lijnen.

Taak 3. Gedragsgenetica van verenpikken: gedrag, fysiologie en genetica van een kruisingsgeneratie van de HFP en de LFP lijnen (i.s.m. project D en project A). In de zomer van 2000 is een groot experiment van start gegaan met een kruisingsgeneratie van de HFP en de LFP lijnen. Op een leeftijd van 5 weken zijn alle 630 dieren getest in een Open-veld test en een sociale verenpiktest. Deze testen zijn herhaald op een leeftijd van 30 weken in de perioden februari t/m april 2001. De gedragsgenetische analyse van verenpikken en open-veld gedrag wordt gedaan i.s.m. Bart Buitenhuis (project D). Ook worden verbanden tussen verenpikken en stressrespons geanalyseerd i.s.m. Yvonne van Hierden (project A). Op een leeftijd van 5 weken vinden we een lage erfelijkheidsgraad van hard verenpikken was niet in te schatten, mogelijk doordat het op deze leeftijd te weinig voorkomt. Zacht verenpikken op 5 weken was positief gecorreleerd met grondpikken in de sociale test en met hoge activiteit en veel vocalisaties in de open-veld test.

In september 2001 zijn extreme verenpikken en ontvangers van verenpikken getraind in de Skinnerbox om een mogelijk verband tussen verenpikken en omgaan met frustratie verder te kunnen onderzoeken. Deze dieren zijn onderworpen aan frustratiesessies met en zonder publiekship. De data worden op dit moment geanalyseerd.

#### **Publications**

- Koene, P., Zimmerman, P., Bokkers, E. and Rodenburg, B., 2001. Vocalisation due to frustration in layer and broiler chickens. In: Oester and C. Wyss (Eds), Proceedings of the 6th European Symposium on Poultry Welfare, Zollikofen, pp. 95-100.
- Rodenburg, B. and Koene, P., 2001. Comparison of individual and social feather pecking tests in two lines of White Leghorn laying hens. In: H. Oester C. Wyss (Eds), Proceedings of the 6th European Symposium on Poultry Welfare, Zollikofen, pp. 250-253.
- Rodenburg, T.B., Koene, P. and Spruijt, B.M., 2001. Reaction to novelty and frustration in high and low feather pecking lines of laying hens. In: J.P. Garner, Mench, J.A. and S.P. Heekin (Eds), Proceedings of the 35th International Congress of the ISAE, Davis, pp. 133.

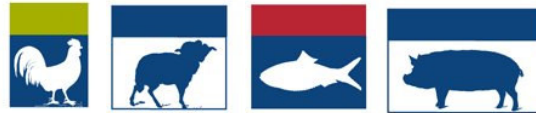
#### **project 806.46.053**

In de eerste helft van 2001 werd een experiment begonnen in 2000 succesvol afgerond (I) en werden twee experimenten met goed gevolg gestart en afgerond (II, III). 1) In oktober 2000 werd, als follow up van een experiment uitgevoerd eerder dat jaar, een experiment opgezet waarbij kuikens van de hoge en de lage verenpik lijn opgroeiden bij een moeder of zonder moeder. Na 4 weken werden kuikens opgroeïend bij een moeder (als familie) geherhuisvest met kuikens opgroeïend zonder moeder. Naast observaties aan verenpikken werden enkele klassieke stress gerelateerde testjes uitgevoerd.

De eerste resultaten laten zien dat kuikens opgroeïend bij een moeder tijdens de opgroei periode (4 weken) niet verschilden in de frequentie van verenpikken van kuikens opgroeïend zonder moeder. Wel bleek dat tijdens de opgroei periode de moeder een aantrekkelijk pik "object" was. En tijdens de opgroei periode reageerden kuikens opgroeïend zonder moeder sterker op stressoren dan kuikens opgroeïend bij een moeder. Na herhuisvesting (samen huisvesten van moeder met niet moeder groepjes) bleek de verenpikken frequentie toe te nemen. Daarnaast pikten moeder groepjes direct na herhuisvesting juist naar onbekende kuikens terwijl niet-moeder groepjes geen onderscheid tussen bekende en onbekende kuikens leken te maken.

Wanneer op een leeftijd van 8 weken (4 weken na herhuisvesting) een nieuw kuiken in zo'n groep geïntroduceerd werd, werd dit kuiken zeer veelvuldig geverenpikt en niet-moeder kuikens deden dit beduidend meer naar dit onbekende kuiken dan de moeder kuikens. In de herhuisvestingsconditie bleek vooral een groot verschil tussen de hoge en de lage verenpik lijn. Er mag dus geconcludeerd worden dat het niet aanwezig zijn van de moeder tijdens de opfok resulteert in 1) een sterkere stress respons gedurende deze periode, 2) een andere pikoriëntatie en 3) een langdurig effect op de frequentie van verenpikken wanneer een nieuw kuiken wordt geïntroduceerd.





Na dertien weken werden hennen uit deze groepen gehuisvest in groepen van vier op rooster bodems teneinde de relatie tussen ernstige en milde vormen van verenpikken te onderzoeken. Hieruit bleek dat op het moment dat ernstig verenpikken ontstaat dit een duidelijke relatie heeft met mild verenpikken.

Daarnaast bleek dat wanneer ernstige verenpikken zich ontwikkeld, dit ernstig verenpikken voornamelijk voorkomt in bouts van mild verenpikken. Ernstige vormen van verenpikken lijken dus een geïntensiveerde vorm van mild verenpikken te zijn. Daarnaast bleek dat de sociale structuur (pikorde) in belangrijke mate bepaalt wie verenpikt en wie geverenpikt wordt. Bovenstaande resultaten worden momenteel verwerkt in een manuscript dat ter publicatie aan een wetenschappelijk tijdschrift zal worden aangeboden.

II. Uit voorgaande experiment bleek dat wanneer onbekende kuikens elkaar tegen komen dit tot een verhoogde expressie van verenpikken leidt en dat de richting van verenpikken (wie pikt wie) afhankelijk is van opgroei achtergrond. Hieruit ontstond het idee dat vroeg verenpikken een vorm van sociale exploratie is. Om deze hypothese te onderzoeken werden kuikens over een korte periode veelvuldig geherhuisvest waarbij in de controle groep de sociale groepscompositie gelijk bleef en in de experimentele groep kuikens paarsgewijs bij elke herhuisvesting in een andere groepscompositie geplaatst werden (met voor hen onbekende soortgenootjes).

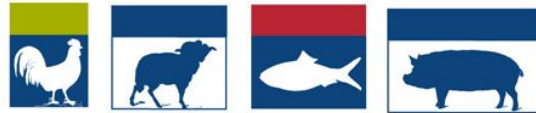
Hieruit kwamen drie belangrijke resultaten naar voren 1) Kuikens die veelvuldig met nieuwe kuikens geherhuisvest werden verenpikten meer dan kuikens die bij elke herhuisvesting in de gelijke groepscompositie bleven. 2) Direct na herhuisvesting was het pikken in de experimentele groepen vooral op de onbekende kuikens gericht en 3) Kuikens uit de experimentele groepen hadden een verhoogde tonic immobility, hetgeen wijst op chronische sociale stress bij het veelvuldig ontmoeten van onbekende soortgenoten. Experiment 2 is gepresenteerd in California als oral paper en verschenen als abstract in de proceedings van het congres. Bovendien zijn de resultaten als manuscript aangeboden aan Applied Animal Behaviour Science (Elsevier).

III: Dieren die leven in grote groepen hebben niet altijd de mogelijkheid gedrag ten volle uit te voeren. Een van de gedragingen die regelmatig gestoord wordt, is slaap. Een verstoorde slaap zou mogelijk kunnen leiden tot een activatie van het stress systeem. Als follow up van een slaap experiment in 2000, werd dit jaar onderzocht of slaaponthouding gedurende de dag (jonge kippen slapen veelvuldig gedurende de dag) leidt tot een verlaging in het percentage unihemisferische slaap (één brein helft slaapt, de andere helft is alert) en of dit samen hangt met de individuele tonic immobility response. Beide bleek het geval te zijn.

IV. In de tweede helft van 2001 werd begonnen met een experiment waarin kuikens tijdens de embryonale ontwikkeling aan licht worden blootgesteld: wanneer kippenembryo's laat in de ontwikkeling licht ontvangen (door de eischaal) heeft dit tot gevolg dat de visuele banen van het oog naar de thalamus zich ontwikkelen. Embryo's liggen meestal met het rechteroog zo in het ei dat alleen dit oog licht ontvangt (Vogels hebben i.t.t. zoogdieren sterk gescheiden oog-brein projecties). In het geval dat het een oog licht ontvangt vindt er asymmetrische ontwikkeling van de linker en rechter banen plaats, wanneer dit niet het geval is vindt er symmetrische ontwikkeling van de projecties plaats. De normale asymmetrische ontwikkeling heeft functionele consequenties op gedragsniveau betreffende angst, vorming van sociale groepsstructuren en sociale herkenning.

Deze drie factoren spelen een rol in de vroege expressie van verenpikken. De eerste resultaten zijn zeer veelbelovend: Kuikens die licht ontvingen gedurende de late ontwikkeling verenpikten meer en "licht" kuikens discrimineerden minder tussen bekende en onbekende tijdens herkenningstestjes. Het effect van lateralisatie op verenpikken wordt op dit moment verder uitgediept.

Concluderend kan worden gemeld dat het project voorspoedig verloopt en dat nieuwe inzichten m.b.t. vroege factoren die de expressie van verenpikken beïnvloeden wellicht gemakkelijke naar de praktijk te vertalen zijn.



## Publications

- B. Riedstra & T. Groothuis: Feather pecking and coping in two lines of white leghorns. Poster Nederlandse vereniging voor Gedragsbiologie 1999.
- B. Riedstra & T. Groothuis: Feather pecking and coping in two lines of white leghorns. Poster BCN onderzoeksschool 1999.
- B. Riedstra & T. Groothuis: The Effects of prenatal androgen treatment in the domestic chick. Poster BCN onderzoeksschool 2000.
- R. Riedstra & T. Groothuis: The Effects of prenatal androgen treatment in the domestic chick. Poster and Abstracts: VII International symposium on avian endocrinology, 2000.
- B. Riedstra & T. Groothuis: Feather pecking and coping in two lines of white leghorns. Poster, Workshop feather pecking Bristol, U.K. 2000.
- B. Riedstra, C. Eising & T. Groothuis: The Effects of prenatal androgen treatment in the domestic chick. Oral presentation, Abstracts 17. Ethologen treffen 49 2000.
- B. Riedstra & T. Groothuis: The development and social nature of feather pecking. Oral presentation, Abstracts 35th International congress ISAE Davis 2001, pag 104. 2001.
- B. Riedstra & T. Groothuis. Paper: Early gentle feather pecking as a form of social exploration: The effect of group stability on feather pecking. Submitted Applied Animal Behaviour Science 2001.

## project 806.46.054

Comparative en physical mapping en isolatie van kippen BAC klonen. Wij hebben een vergelijkende genenkaart gemaakt van kippen chromosoom GGA13 en humaan chromosoom HSA5, omdat er een sterk vermoeden was, op basis van homologie tussen kip GGA13 en mens HSA5q23-q35, dat het glucocorticoid receptor kandidaat gen (NR3C1) (HSA5q31) ook bij de kip op GGA13 zou liggen. Gebruikmakend van de 14 beschikbare micro-satelliet merkers zijn uit onze eigen kippen BAC bank (Bacterial Artificial Chromosome) BACs geïdentificeerd voor die merkers op micro-chromosoom GGA 13. Door selectief DNA volgorden te bepalen van uiteinden van de BACs zijn extra start c.q. markeringspunten gecreëerd zgn STS (sequence tagged sites). Deze STS zijn nodig om overlappende BACs te vinden en zo een contig te maken van GGA 13. In totaal zijn 57 STS ontwikkeld en 204 BAC klonen geïdentificeerd die een stuk van GGA 13 bevatten. In totaal beslaan deze 204 BAC klonen ongeveer 20% van het totale chromosoom. Een 40-tal BAC klonen is gesubcloneerd en gesequenced.

De verkregen DNA sequenties zijn elektronisch vergeleken met humane databanken door middel van het programma BLAST. Een aanvullende benadering is geweest om uitgaande van bij de mens bekende genen op HSA5 de homologie kippen genen te zoeken, de corresponderende BAC klonen te identificeren en deze te plaatsen op het kippen genoom m.b.v. moleculaire technieken zoals Single Nucleotide Polymorphism (SNP)-typing en Fluorescent in situ Hybridisation (FISH). Het gebruik van deze 2 manieren heeft ertoe geleid dat er in totaal 14 genen (GABRA1, GABRA6, GABRG2, KIAA1673, FLJ12686, KIAA0731, C5ORF4, CNOT8, FLJ10290, MADH5, UBE2B, KIAA0837, NR3C1) zijn geplaatst naast de 6 genen (CDX1, MSX2, POU4F3, SPARC, IRF1, CAMLG) die al eerder geplaatst zijn. Het glucocorticoid receptor kandidaat gen (NR3C1), dat in het kader van dit project interessant is, is ook geïdentificeerd en geplaatst op chromosoom GGA13. Al deze genen zijn afkomstig uit het gebied van humaan chromosoom HSA5q23-5q35. Daarmee is er een gedegen vergelijkende kaart gemaakt tussen HSA5 en GGA13. Dit gedeelte van het project is afgerond met een paper (submitted to Animal Genetics).

De F2 testpopulatie. In januari 2001 zijn we gestart met het genotyperen. In totaal worden er 176 merkers (13 sets met elk ongeveer 14 microsatelliet merkers) gebruikt om de 654 F2 dieren te testen (117066 genotyperingen). In 2001 zijn 11 sets afgewerkt (100716 genotyperingen), de 2 overige sets worden in januari 2002 afgemaakt (16350 genotyperingen). Daarnaast is ook begonnen met het controleren van de genotyperingen. Dit gaat volgens een standaard procedure: eerst loopt degene die ook de PCR reacties en de gels draait, alle genotyperingen handmatig door, daarna kijkt een



onafhankelijk iemand nog eens naar de typeringen en vervolgens worden de typeringen opgeslagen in een database. In deze database worden de gegevens gerangschikt en nog een keer gecontroleerd mbv een computerprogramma (Crimap). We zijn u ongeveer op de helft met controleren van de sets die al gedraaid zijn. De genotyperingen op deze manier invoeren en controleren is een noodzakelijke stap om het uiteindelijke doel te behalen, nl. het uitvoeren van QTL-analyse.

De fenotypische kenmerken die in het kader van project B (individuele verenpik test, Open-field test) zijn ook dit jaar afgerond. Daarnaast is de Manual Restraint test uitgevoerd in samenwerking en afstemming met project A. Ook zijn een tweetal immunologische parameters meegenomen (primaire antilichaam titers tegen de antigenen KLH-DNP en Myco butyricum), om te onderzoeken of gedragsparameters, cortisolniveau na Manual Restraint en immuunresponse aan elkaar gerelateerd zijn. In de loop van 2002 kunnen we de gedragsparameters, fysiologische parameters (cortisol niveau na manual restraint) en immunologische parameters (primaire antilichaam titer tegen KLH-DNP en Mico butyricum) met de genotypische data correleren (QTL-study).

### **Publications**

- Buitenhuis, A.J., R.P.M.A. Crooijmans, E.S. Bruijnesteijn-van Coppenraet, A. Veenendaal, M.A.M. Groenen & J.J. van der Poel. Improvement of the comparative map of chicken chromosome 13. Submitted to Animal Genetics.