

Kortikosteron i fjær – en mulig velferdsindikator?



Av Kristin Sørheim & Juni Rosann E. Johansen

TITTEL/TITLE

Kortikosteron i fjær – En mulig velferdsindikator?

FORFATTER(E)/AUTHOR(S)

Av Kristin Sørheim & Juni Rosann E. Johanssen

DATO/ DATE:	RAPPORT NR./ REPORT NO.:	TILGJENGELIGHET/ AVAILABILITY:	PROSJEKT NR./ PROJECT NO.:	SAKSNR./ ARCHIVE NO.:
23.03.2018	VOL.3/NR.4/2018	Åpen	3055	ARKIVNR
ISBN-NR./ISBN-NO:	ISBN DIGITAL VERSJON/ ISBN DIGITAL VERSION:	ISSN-NR./ISSN-NO:	ANTALL SIDER/ NO. OF PAGES:	ANTALL VEDLEGG/ NO. OF APPENDICES:
978-82-8202-058-9	Versjon nr. 1	ISSN NR	20	0

OPPDRAGSGIVER/EMPLOYER:

Landbruksdirektoratet

KONTAKTPERSON/CONTACT PERSON:

KONTAKTPERSON

STIKKORD/KEYWORDS:

Fjørfe, slaktekylling, høns, dyrevelferd, stress, stresshormoner i fjær, velferdsindikator, kortikosteron

Poultry, broiler chicken, hens, animal welfare, stress, stress hormones in feathers, welfare assessment, corticosterone

FAGOMRÅDE/FIELD OF WORK:

Dyrevelferd

Animal welfare

SAMMENDRAG:

I dette prosjektet har vi utredet om kortikosteron-målinger i fjær fra fjørfe kan være egnet som velferdsindikator. Vi har sammenligna tre besetninger: En liten økologisk eggproduksjonsbesetning og to slaktekyllingbesetninger med ordinære kyllinghus, syv-åtte innsett per år og med tilnærmet lik utforming av hus og driftsopplegg. Det ble tatt fjærprøver (ryggfjær) fra 21 levende, 16 selvdøde og ti avlivede, totalt 47 fjørfe, av ulike alder. Analysene ble gjort ved NTNU Ålesund. Dataene ble sammenlignet i en enveis variansanalysemodell. Vi fant signifikante forskjeller i kortikosteron-nivå i fjær fra en besetning i forhold til de to andre. Vi fant ikke signifikante forskjeller på kortikosteron-nivået i forhold til alder eller mellom friske og selvdøde kyllinger i samme besetning. Vi har gjennomført en litteraturgjennomgang for å se hva som er gjort i forhold til måling av stresshormoner i fjær fra fjørfe og i hår fra ulike andre dyr. Det er gjort noen få studier med måling av stresshormoner (kortisol og kortisolmetabolitter) i hår fra storfe, og det er funnet indikasjoner på at nivå i hår følger nivå i avføring og blod, samt at høyt nivå av kortisol og kortisolmetabolitter kan ha sammenheng med klinisk sykdom eller andre påkjenninger. Det er også gjort noen studier på blant annet hund og på ville dyr, samt mange studier på ville fugler. Måling av kortison i hår og kortikosteron i fjær er en skånsom og ikke-invasiv metode. Våre undersøkelser indikerer at måling av stresshormoner muligens kan si noe om velferden hos både fjørfe og andre husdyr. Forsøket er et pilotstudium, og det er nødvendig å gjennomføre flere forsøk, både for ulike arter, og med større antall dyr for å verifisere resultatene og for å se hvordan dette kan utnyttes i praktisk husdyrhold.

SUMMARY:

In this project we have investigated if corticosterone measurements in feathers from poultry can be suitable as a method to explore animal welfare. We have compared three different herds with poultry: One small herd with organic egg production poultry, and two conventional broiler chicken herds with ordinary chicken houses with approximately similar design of chicken house and management. It was taken feathers from 21 living, 16 self-dead and ten euthanized poultry, of different age. The analysis was done by NTNU Ålesund. The data was compared with a one-way analysis of variance model. We found significant differences on corticosterone-level in feathers from one herd compared to the two other herds. We didn't find significant differences on corticosterone-level when it came to age of the animals, or between healthy and self-dead broiler chickens. We have conducted a literature review of previous research in relation to measuring of stress hormones in feathers from poultry and in hair from different other animals. It has been done a few studies with measuring of stress hormones in hair from cattle, and it has been found indications about that levels of stress hormones in hair follows levels of stress hormones in faeces and blood, and that a high level of stress hormones can have correlation to clinical disease or other stress. It has also been done some studies on for example dogs, and different wild animals, as well as many studies on wild birds. Our investigations indicate that measuring of stress hormones can be developed further to be a method to explore welfare in both poultry and other farm animals. It is necessary to carry out more studies, both for different species, but also with a larger number of animals to verify the results and to see how this can be used in practical animal husbandry.

LAND/COUNTRY:	Norge
FYLKE/COUNTY:	Møre og Romsdal
KOMMUNE/MUNICIPALITY:	Tingvoll
STED/LOKALITET:	Tingvoll gard

GODKJENT /APPROVED

TURID STRØM

NAVN / NAME**PROSJEKTLEDER /PROJECT LEADER**

EMMA BRUNBERG

NAVN / NAME

Forord

Norsk senter for økologisk landbruk fikk i 2016 innvilget utredningsmidler til prosjektet «Kortison som velferdsindikator». Hovedmålet med dette forprosjektet var å undersøke om måling av kortison i ull fra sau og kortikosteron i fjær fra kylling kan være egnede indikatorer for å måle kronisk stress hos disse dyreartene. I denne rapporten redegjør vi for forsøket på fjørfe. Resultatene for sau blir publisert i en egen NORSØK Rapport.

Prosjektet har vært gjennomført i samarbeid med Veterinærinstituttet v/Solveig Marie Stubsjøen, Nibio v/Lise Grøva og Ytterøykylling AS. NTNU Ålesund har gjennomført analysene.

Vi takker for Landbruksdirektoratet for økonomisk støtte og kyllingprodusentene for opplysninger om driftssystemene og for hjelp og bistand til innsamling og behandling av prøvemateriale. Tusen takk også til forskningstekniker Peggy Haugnes som har bistått med innsamling og bearbeiding av prøvematerialet.

Emma Brunberg

Tingvoll, 23.03.18

Innholdsfortegnelse

Forord.....	4
Innholdsfortegnelse	5
1. Innledning	6
1.1 Definisjoner	6
1.2 Bakgrunn.....	8
2. Materiale og metode	10
2.1 Materiale og metode	10
2.1.1 Dyremateriale	10
2.1.2 Forsøksoppsett.....	12
2.1.3 Målinger	13
2.1.4 Statistisk analyse	13
3. Resultater	14
3.1 Resultater kortikosteron.....	14
4. Diskusjon	16
5. Konklusjon	17
6. Referanser	18

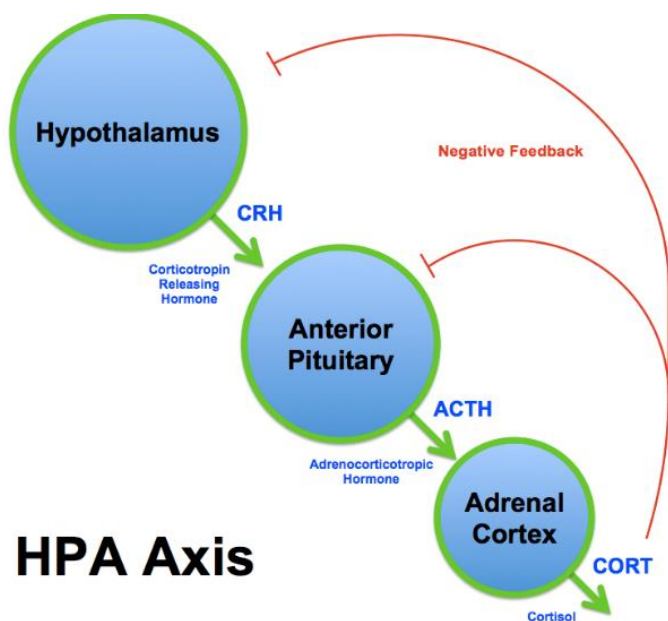
1. Innledning

1.1 Definisjoner

(Kilder: Animal Physiology (Hill 2012), Norsk helseinformatikk (NHI 2015), Store medisinske leksikon (Husebye 2018).

Kortikosteroider er en fellesbetegnelse for steroider som produseres i binyrebarken, både glukokortikoider (kortisol) og mineralokortikoider (aldosteron), samt for syntetisk fremstilte steroider i nært kjemisk slektskap til disse. Glukokortikoider regulerer glukosestoffsiftet, og mineralokortikoider har innvirkninger på mineralstoffsiftet.

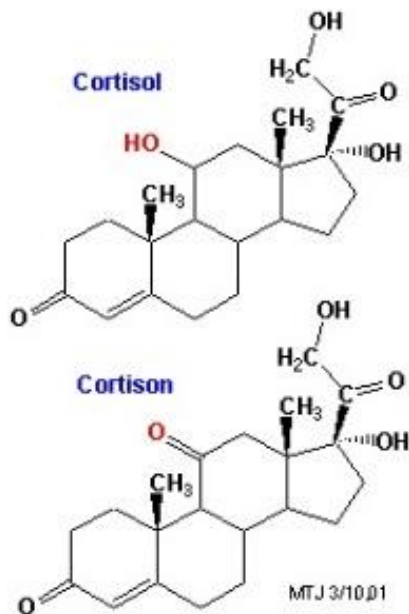
Kortisol ($C_{21}H_{32}O_5$) er det viktigste naturlig forekommende glukokortikoidet og blir gjerne kalt et **stresshormon**. Kortisol har en rekke fysiologiske effekter. Det regulerer metabolisme, immunsystem, hjertefrekvens og vekst. Syntesen og reguleringen er nøye regulert av sentralnervesystemet. Utskillelsen av kortisol fra binyrene stimuleres av hypofysehormonet ACTH, og er kraftigst i tidlige morgentimer.



Figur 1: Skjematisk fremstilling av HPA-aksen (hypotalamus-hypofyse-binyre-aksen)- et komplekst neuroendokrint system som regulerer mange kroppsfunksjoner, slik som fordøyelse, immunapparat og energibalanse (Wikipedia 2018).

Figur 1 viser at kortikotroinfrisettende hormon (CRH) fra hypotalamus stimulerer frisetting av ACTH (adrenokortikotropt hormon) fra hypofysen, som så stimulerer til produksjon og frisetting av kortisol fra binyrebarken (Wikipedia 2018). Kortisol virker igjen tilbake både på hypofyse og hypotalamus og bremser frisettingen av hormonene, slik at når dette systemet er intakt, opprettholdes det en balanse i kortisolnivået i blodet i forhold til de utfordringer eller påkjenninger kroppen er utsatt for. Frisetting av CRH fra hypofysen påvirkes av stress, fysisk aktivitet, sykdom, tid på døgnet og kortisolnivå i blodet.

Kortison er et glukokortikoid som produseres i binyrebarken, men det kan også produseres syntetisk. Det er inaktivt og må omdannes i kroppen til kortisol for å få effekt. Kortison er svært nært beslektet med kortisol, men har et keton (et oksygenatom festet med en dobbeltbinding) i stedet for en hydroksylgruppe (OH-gruppe) på karbonatom nr. 11. Kortison har ca. 80 % av effekten til kortisol.



Figur 2: Kjemisk formel for kortisol og kortison.

Kortikosteron ($C_{21}H_{30}O_4$) har effekt både som glukokortikoid og mineralokortikoid, men har langt mindre betydning hos menneske enn kortisol. Hos en del dyrearter derimot, blant annet fugler, er kortikosteron viktigere enn kortisol. Kortikosteron regnes også som et stresshormon på grunn av sin liket med kortisol. Kortikosteron omsetter fett, protein og karbohydrater til glukose, og regulerer natrium og kaliumnivået i kroppen, på samme måte som kortisol. Det fungerer også mildt dempende mot betennelser som ikke er forårsaket av bakterier.

Langvarig stress kan gi forhøyet nivå av **kortisol** i blod og i spytt, mens urin og avføring inneholder ulike **artsspesifikke metabolitter av kortisol**.

1.2 Bakgrunn

For å vurdere dyrevelferd baserer vi oss på et sett av indikatorer som er utviklet over tid. Man kan dele velferdsindikatorer inn i dyrebaserte velferdsindikatorer, som er basert på dyrenes atferd, biologiske funksjon og helsestilstand, og miljøbaserte velferdsindikatorer, som er det man kan observere i dyras miljø. Fordelen med miljøbaserte velferdsindikatorer er at de ofte er enkle å måle. Ulempen er at de er indirekte, og ikke sier noe om den faktiske velferden til de individuelle dyrene.

Eksempler på dyrebaserte velferdsindikatorer er vokalisering (lyder), annen atferd (signaler og bevegelser) eller utseende (ytre karakteristika, hud, pels, kondisjon, mv.). Andre og mer objektive indikatorer er fysiologiske måleparametere som hjerterefrekvens, hjerteratevariabilitet og hjernesignaler eller parametere som kan måles i kroppsvæsker. Slike parametere er for eksempel glukokortikoider, adrenalin, noradrenalin, samt stoffer som blodsukker, fettsyrer, proteiner og thyroideahormoner som økes ved stress (Broom & Johnson 1993; Bøe et al. 2004; Kittilsen 2009).

Individuelle forskjeller i fysiologiske og atferdsmessige responser ved stress kan være årsak til ulik mottakelighet for stress og sykdom.

I et forsøk med eggproduksjonshøns ble høns føret med et fôr som inneholdt stresshormonet kortikosteron eller et vanlig fôr, og holdt på golv med strø eller på spaltegolv (El-Iethy et al. 2001). Høns som ble føret med fôret som inneholdt kortikosteron fikk blant annet lavere tilvekst og eggproduksjon sammenlignet med høns som ble føret med vanlig fôr. På strø utviklet høns som hadde fått kortikosteron i fôret signifikant høyere grad av fjærplukking enn de som hadde fått vanlig fôr. Samtidig så man at høns som var føret normalt utviklet høyere grad av fjærplukking på spalter sammenlignet med strø. Forsøket viser at økt kortikosteron hos tamfugl kan gi lavere tilvekst og produksjon, samt høyere grad av uheldig atferd som fjærplukking.

Generelt har det vist seg at det kan være vanskelig å tolke kortisol-nivå i forhold til stress hos mange dyrearter, særlig hvis det måles i kroppsvæsker, men også i hår (Lefcourt et al. 1993; Moberg & Mench 2000).

Hos fugler har måling av kortikosteron i fjær i senere tid blitt kjent som en enkel og god måte å måle kronisk glukokortikoid-utskillelse, og dermed kronisk stress (Carbajal et al. 2014).

Fordeler med å måle stresshormoner i hår/ull og fjær er at det er en rask, ikke-invasiv metode (Burnett et al. 2015). Man kan ta prøver når som helst på året på en enkel måte på alle slags dyr og fugler. Prøvemethoden gir minimale påvirkninger på dyret og er dermed en god metode med tanke på dyrevelferd, man trenger få hjelpemidler for å ta ut prøvene. Når det gjelder fjær kan man bruke fjær som fuglene har mistet selv (Bortolotti et al. 2008). Dyrene kan være levende, døde, nedfrysede eller utstoppede (Bortolotti et al. 2009).

Det er gjort lite på måling av kortikosteron i fjær hos tamfugl. En studie av Carbajal et al. (2014) ble utført for å vurdere velferd hos slaktekylling, der måling av kortikosteron i fjær ble gjort med ELISA-metoden (enzyme-linked-immunosorbent-assay). Det ble ikke funnet noen signifikante forskjeller i konsentrasjon av fjær-kortikosteron i forhold til kjønn, vekt eller tilstand på fjærdrakt. Forskerne mente at dette var første gangen noen hadde brukt en slik metode for å vurdere velferd hos slaktekylling, og at ELISA-metoden var et godt verktøy for å måle kortikosteron-nivåer i fjær fra slaktekylling.

Det er gjort studier som konkluderer med at kortikosteron i fjær kan brukes som indikator på stress på grunn av for eksempel underføring av kylling i oppdrett (Carbajal et al. 2014). Det er også vist at høyt kortikosteron-nivå i fjær kan gi bedre motstandsdyktighet mot koksidiøse hos grønnfink (Sild et al. 2014). Når det gjelder ville fugler er det mange studier som er gjort på måling av kortikosteron i fjær, blant annet for rødhøne (Bortolotti et al. 2008), konglekråke (Fairhurst et al. 2011), nattlerke (Graham D. Fairhurst et al. 2013), tresvale (G. D. Fairhurst et al. 2013), grønnfink (Hörak et al. 2013), spurv (Romero et al. 2005; Koren et al. 2012), stær (Lattin et al. 2011), musvåk (Martínez-Padilla et al. 2013), rovterne (Patterson et al. 2015), ærfugl og snøgjess (Harms et al. 2014), svartglente (López-Jiménez et al. 2017), og neshornlunde (Will et al. 2014).

Kortikosteron-nivå i fjær hos rødhøns har vist seg å være positivt korrelert med antall egg fuglen hadde lagt de tidligere måneder (Bortolotti et al. 2008). Farge på fuglers fjær har vist seg å være påvirket av kortikosteron-nivået i fjærene (Bortolotti et al. 2008; Martínez-Padilla et al. 2013). Tresvale-unger som var mindre i størrelse, lysere i fargen og dårligere på å fly hadde høyere kortikosteron-nivåer i fjær en andre tresvale-unger (G. D. Fairhurst et al. 2013). Kortikosteron-nivåer i fjær var høyere hos gråspurv som døde førstkomende vinter enn for gråspurv som overlevde vinteren (Koren et al. 2012).

Strong et al. (2015) undersøkte flere fuglearter og fant ingen forskjell i kortikosteron-nivåer i fjær med alder eller kjønn, men hos to fuglearter ble det funnet signifikante forhold mellom kortikosteron-nivå i fjær og kroppstilstand. Hos en art var kortikosteron-nivå i fjær positivt relatert til konsentrasjon av fem metaller (Cd, Mn, Co, Cu og Mo) og metalloidet As. Måling av kortikosteron-nivå i fjær kan dermed brukes som en biomarkør for eksponering av miljøgifter for ville fugler.

En studie av Romero, Storchlic & Wingield (2005) viste at kortikosteron-nivå hos spurv er sesongavhengig, det ble funnet lavest konsentrasjon av kortikosteron i plasma ved første myting når alle fjærene var erstattet. Årsaken kan være at fuglen nedregulerer frigjøring av kortikosteron under første myting for å unngå kortikosteronets nedbrytende effekter på proteiner og hemming av proteinsyntese. Et nytt komplett sett med fjær kan være viktigere for fuglens overlevelse enn kortikosteronets evne til å reagere maks på en stressor.

Hovedmål for vårt prosjekt var: ***å undersøke om kortikosteron-målinger i fjær kan være en egnet stressindikator for fjørfe.***

Delmål var å studere utviklingen i kortikosteron-målinger i fjær under potensielt stressende og kontrollerte betingelser, og vurdere om dette kunne benyttes til vurdering av velferd i driftssystemer i fjørfeproduksjon.

Samtidig skulle vi vurdere hvordan resultatene kunne ha relevans for velferdsvurderinger hos andre dyrearter og anvendes i utvikling av gode driftssystemer.

2. Materiale og metode

2.1 Materiale og metode

2.1.1 Dyremateriale

Det ble tatt fjærprøver fra totalt 47 fjørfe, hvorav seks var fra en liten flokk med økologiske eggproduksjonshøns i Møre og Romsdal (besetning C) og 41 var fra konvensjonelle slaktekyllinger fra to besetninger i Trøndelag (besetning A og B).

De seks hønsene fra besetning C var tre haner og tre høner. De tre hanene var 3,5 måneder gamle, en var av rasen skånsk blomhøns, en blanding av maran og skånsk blomhøns, og den tredje var en annen skånsk blomhøns-blanding. De tre hønene var en isbar-høne på 1,5 år, en maran-høne på 2 år, og en antwerpen skjegghøns-høne på 2 år. Disse ble holdt sammen med noen andre høner og haner, i en liten flokk på totalt 13 høns i et hus med god plass på totalt 16,5 m², noe som ga 1,27 m² per dyr. I huset var det flis som strø, vagler og reder, fri tilgang til vann og økologisk kraftfôr, i tillegg fikk de ofte matrester og annet. I huset var det lys på fra kl. 07.00 til 19.00, og fri tilgang til et stort uteområde på 1000 m² fra morgen til kveld omtrent hver dag hele året. I uteområdet kunne hønsene bevege seg rundt og bruke mye tid på fôrrelatert atferd i jord, gress og andre planter.



Bilde 4, 5, 6, 7, 8 og 9: Bilder av hønsene fra besetning C. Foto: Rosann Johanssen



Bilde 10 og 11: Viser huset og litt av uteområdet til hønsene i besetning C. Foto: Kirsty McKinnon

De til sammen 41 slaktekyllingene fra to besetninger i Trøndelag, besetning A og B, var konvensjonelle slaktekyllinger av rasen Ross 308 holdt frittgående inne i kyllinghall.

Fra besetning A ble det tatt ut fjærprøver fra 31 kyllinger. De ble holdt i en hall på 863 m² med ca. 13 900 kyllinger per innsett. Disse var også kjøpt inn fra Samvirkekylling. I besetning A ble kyllingene holdt rett på golv strødd med sponballer. De hadde 4 fôrrekker og 5 drikkerrekker, ble fôret med FK-Kromat og hadde samme lysstyring som kyllingene i besetning B. Kyllingene her var også vaksinert med Paracox 5, hadde en slaktealder på 35 dager og en slaktevekt på 1550 g. Dødeligheten var på 3,7 % i 2015, og 4,8 % i 2016. Areal for kyllingene var på 16,1 kylling/m², dvs. ca. 37 kg levendevekt/m² ved slaktedato*.

Det ble tatt fjærprøver fra ti kyllinger i besetning B. Disse ble holdt i en hall på 1144 m² med totalt ca. 18 000 kylling per innsett. Kyllingene var kjøpt inn fra Samvirkekylling og ble slaktet som Ytterøykylling. I hallen ble kyllingene holdt rett på golv med golvvarme og flis som strø. Kyllingene hadde fri tilgang til vann fra UV-filter og ble fôret med FK-Kromat kraftfôr fra Felleskjøpet. De første fem dagene hadde kyllingene full belysning, og fra kyllingene var seks dager gamle hadde de et lysprogram med 2*4 timers mørkeperioder og 2*8 timers perioder med lys hvert døgn. Utover i innsettet var det gradvis reduksjon av lysintensitet. Kyllingene ble vaksinert med Paracox 5 (erstatning for narasin). Slaktealder for kyllingene var på 35 dager, med en gjennomsnittlig slaktevekt på 1550 g (dvs. ca. 2300 g levendevekt). Dødeligheten var på 4-5 % i 2013-2016, men ifølge produsenten var den nede i 3 % i 2017. Areal for kyllingene var på ca. 15,7 kylling/m², dvs. ca. 36 kg levendevekt/m² ved slaktedato.

**) Standard dyretetthet for konvensjonell slaktekylling er på 25 kg levendevekt/m², men med deltakelse i eget dyrevelferdsprogram og oppnådde tråputepoeng kan man ha opptil 36 kg levendevekt/m² (Lovdata 2006). Produsentene her har 36 og 37 kg levendevekt/m² om man regner med hele innsettet, men siden noen prosent av kyllingene dør før slaktedato blir dyretettheten litt mindre enn dette ved slaktedato. I økologisk slaktekyllingproduksjon er det tillatt med opptil 21 kg levendevekt/m² (Mattilsynet 2017).*



Bilde 12 og 13: Bilde 12 viser slaktekyllingene i besetning A. Bilde 13 viser en av de levende, friske slaktekyllingene fra besetning A som det ble tatt fjærprøver fra. Foto: Produsenten selv og Rosann Johanssen

2.1.2 Forsøksoppsett

Det ble tatt fjærprøver fra 21 levende og 26 døde fjørfe (tabell 1). Fra besetning C ble det tatt fjærprøver fra seks friske høns 15. august 2017. Det ble nappet ut tre-fire ryggfjær fra hvert dyr.

De resterende 41 fjærprøvene ble tatt fra de to konvensjonelle slaktekyllingbesetningene i august-september 2017 (tabell 1). Fra besetning A ble det tatt fjærprøver fra 15 friske, tilfeldig valgte, 21 dager gamle kyllinger. Fra denne besetningen ble det også tatt fjærprøver fra seks selvdøde kyllinger, dødd ved 20 dagers alder, og ti selvdøde kyllinger, dødd rett før slaktedato, ved 34 dagers alder. Fra besetning B ble det tatt fjærprøver fra ti friske, tilfeldig valgte kyllinger. Disse var avlivet og fryst ned samme dag som kyllingene ble slaktet, ved 35 dagers alder.

Fra alle de 31 kyllingene fra besetning A ble det nappet ut fem ryggfjær, derav to fjær fra henholdsvis høyre og venstre side av ryggen; en rett bak nakke og en etter vinge. Den femte fjæren var en lengre ryggfjær, fra omtrent midt på ryggen. Lengden av denne fjæren ble målt når kyllingene var 21 og 34 dager gamle for å vurdere fjærveksten i denne perioden. Fra de ti kyllingene fra besetning B ble det nappet ut 4 ryggfjær, to på høyre side, en bak nakke og en bak vinge, og to på venstre side, på samme sted. Alle de døde kyllingene var frosne, og det var vanskelig å få nappet ut fjær på nøyaktig samme sted på hver kylling, dermed ble det litt variasjon i hvor fjærene ble nappet. Noen manglet en del fjær, og de avlivede kyllingene hadde en del fjær med blod på som vi ikke ønsket å bruke i forsøket. Når en fjær ble nappet ut nappet man ut hele fjæren med stilk fra der den satt fast i huden. Fjærene fra hvert dyr ble lagt i en konvolutt og fryst ned, før de senere ble sendt til analyse ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU) i Ålesund.

Fjærene fra hvert dyr ble da knust og blandet og det ble tatt en prøve fra hvert dyr for analyse for kortikosteron.

Tabell 1: Informasjon om fjærprøvene.

Dyr	Tilstand	Antall dyr	Dato tatt prøver	Alder	Fra
Høner	Levende	3	15.08.17	1,5-3 år	Besetning C
Haner	Levende	3	15.08.17	3,5 mnd.	Besetning C
Slaktekylling	Selvdød	6	27.08.17	20 dager	Besetning A
Slaktekylling	Levende	15	28.08.17	21 dager	Besetning A
Slaktekylling	Selvdød	10	11.09.17	34	Besetning A
Slaktekylling	Avlivet	10	14.08.17	35 dager	Besetning B

2.1.3 Målinger

Ekstraksjon og måling av kortikosteron fra fjærprøvene ble foretatt ved NTNU i Ålesund (metode opprinnelig beskrevet av Bortoletti et al. (2008)). Fjærene ble først vasket med n-hexan og tørket til dagen etter. Fjærposen (calamus) ble fjernet, deretter ble fjærskafet (rachis) og fjærstråler (rami) klipt opp i små biter. 50 mg fjær per fugl ble veid opp og overført til rør med 5 mm stålkule. Fjær ble deretter pulverisert ved bruk av Qiagan Tissuelyser (30 Mhz/5 minutt). Fjærpulver ble tilsatt 10 ml metanol (>99,9 % HPLC grade) og inkubert ved romtemperatur til dagen etter. Prøven ble sentrifugert og supernatanten ble overført til glassrør. Deretter ble den dampet inn til tørrhet under nitrogen (50 °C), og resuspendert i 100 µL assay buffer. Til slutt ble den analysert med DetectX Cortisol Assay (EIA).

2.1.4 Statistisk analyse

Ved hjelp av SAS (Statistic Analysis Software 9.4) ble det foretatt en ordinær enveis variansanalysemodell. Det var 5 grupper (tabell 2) med observasjoner med totalt 47 observasjoner fra 47 individer. Gruppene ble nummerert fra 1 til 5, hvor 1 var seks friske eggproduksjonshøns fra besetning C, 2 var ti friske slaktekyllinger ved 35 dagers alder fra Besetning B. 3,4 og 5 var 31 slaktekylling fra besetning A hvorav seks var selvdøde ved 20 dagers alder (gruppe 3), 15 var friske ved 21 dagers alder (gruppe 4), og ti var selvdøde ved 34 dagers alder (gruppe 5). En av de 47 observasjonene, observasjon nummer 38, hadde en veldig høy verdi på kortikosteron. Denne ble dermed ansett som en outlier som kunne ha uforholdsmessig stor innflytelse på resultatene, og ble derfor fjernet.

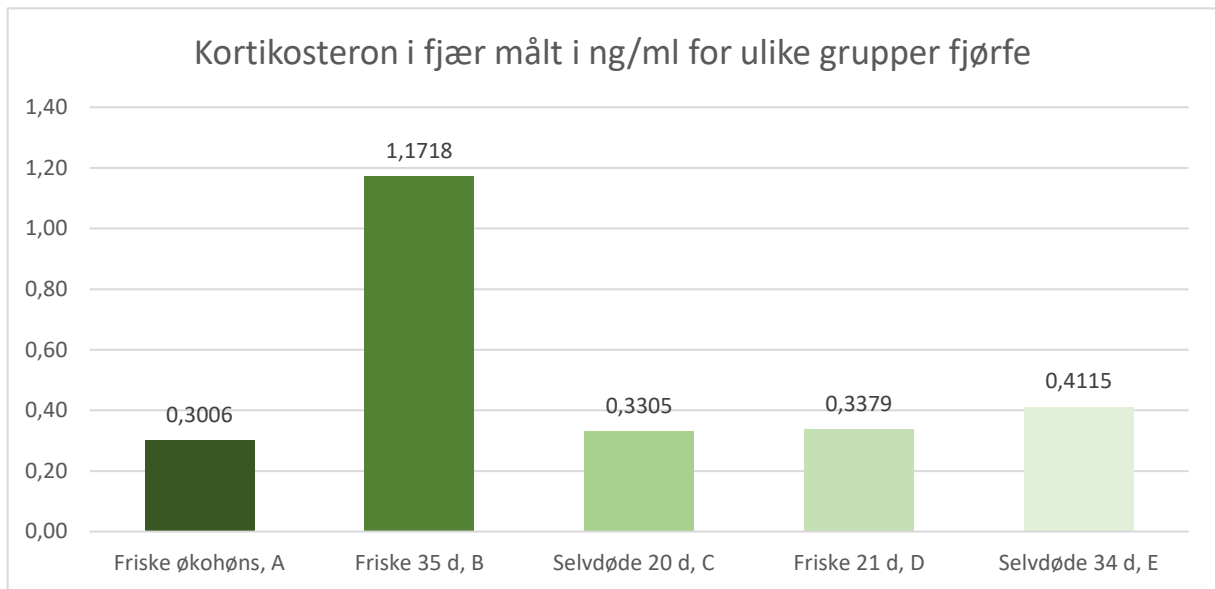
Tabell 2: Viser hvilke grupper med alder på fjørfe som er i hver av de tre besetningene.

Besetning	Gruppe og alder
C – Økologisk eggproduksjonshøns	1 (3,5 mnd. til 3 år)
A – Konvensjonell slaktekylling	2 (35 dager)
B – Konvensjonell slaktekylling	3 (20 dager), 4 (21 dager) og 5 (34 dager)

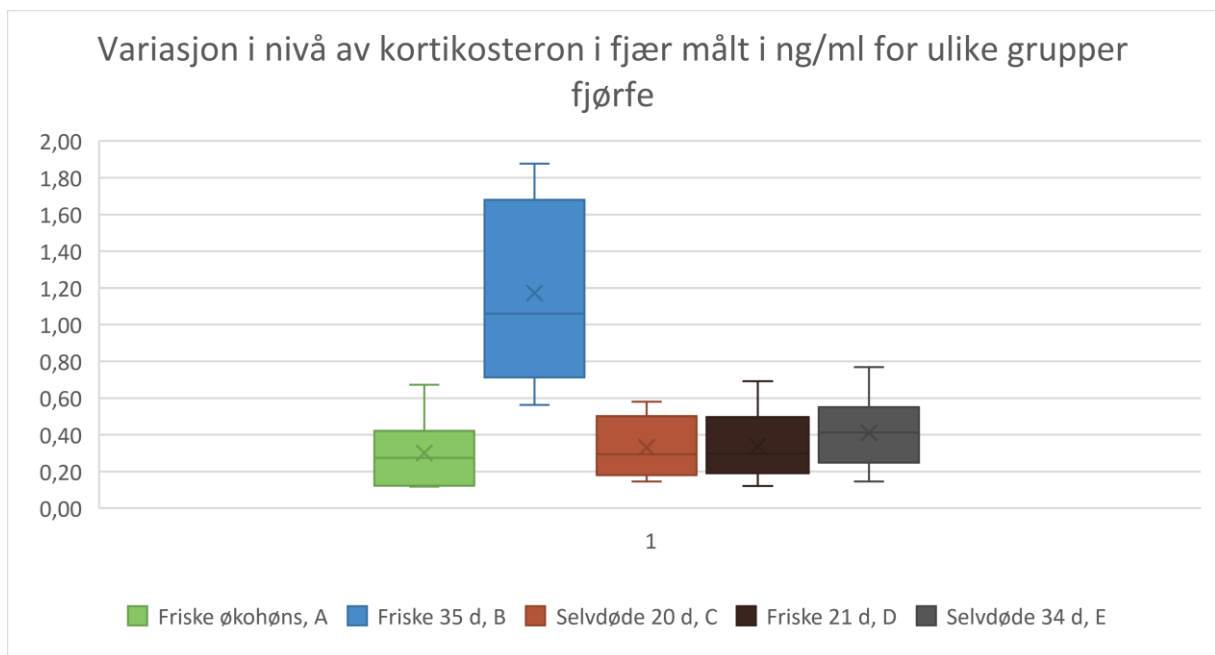
3. Resultater

3.1 Resultater kortikosteron

Figur 2 viser gjennomsnittlig nivå av kortikosteron i fjær for de ulike gruppene med fjørfe og figur 3 viser variasjon i nivå av kortikosteron i fjær med standardavvik for de ulike gruppene med fjørfe. Det ser ut til å være lavt nivå av kortikosteron, og liten variasjon, målt i fjær fra økologiske eggproduksjonshøns (gruppe 1) og slaktekyllingene fra besetning A (gruppe 3,4 og 5). Slaktekyllingene fra besetning B (gruppe 2) ser ut til å ha et mye høyere nivå av kortikosteron i fjær, men også større variasjon.



Figur 1: Gjennomsnittlig nivå av kortikosteron i fjær for de ulike gruppene med fjørfe, gruppe 1,2,3,4 og 5.



Figur 2: Variasjon i nivå av kortikosteron i fjær målt i ng/ml for ulike grupper med fjørfe (\pm SE).

Resultater fra ordinær enveis variansanalysemodell utført med SAS (tabell 3) viste signifikant forskjell (P-verdi: 0,0411) i nivå av kortikosteron i fjær fra eggproduksjonshøns i besetning C kontra slaktekylling, hvor besetning C hadde lavere nivå av kortikosteron i fjær. Når man bare så på besetning A, var det ikke signifikant forskjell mellom disse slaktekyllingene sammenlignet med besetning C (P-verdi: 0,6445). Det var sterk signifikant forskjell mellom besetning C sammenlignet med slaktekyllingene fra besetning B (P-verdi: <0,0001) og mellom slaktekylling fra de to ulike besetningene (P-verdi: <0,0001). I besetning A var det ikke signifikante forskjeller mellom de ulike gruppene av slaktekylling. Friske slaktekyllinger på 35 dager fra besetning B hadde signifikant høyere nivå av kortikosteron sammenlignet med selvdøde slaktekyllinger på 34 dager fra besetning A (P-verdi: <0,0001). Siden slaktekyllingene fra besetning B hadde høyt nivå av kortikosteron, og disse var antatt friske, hadde friske fjørfe signifikant høyere nivå av kortikosteron sammenlignet med selvdøde fjørfe (P-verdi: 0,0155).

Tabell 3: Resultater fra måling av kortikosteron i fjær, resultat etter en ordinær enveis variansanalysemodell utført med SAS.

Sammenligning	P-Verdi
Eggproduksjonshøns (n=6) kontra slaktekylling (n=40)	0,0411
Eggproduksjonshøns besetning C (n=6) kontra slaktekylling besetning A (n=30)	0,6445
Eggproduksjonshøns (n=6) kontra slaktekylling besetning B (n=10)	<0,0001
Slaktekylling besetning A (n=30) kontra slaktekylling besetning B (n=10)	<0,0001
Selvdøde 20 dager (n=6) kontra friske 21 dager (n=15), besetning A	0,9569
Selvdøde 34 dager (n=9) besetning A kontra friske 35 dager, besetning B (n=10)	<0,0001
Selvdøde 20 dager (n=6) kontra selvdøde 34 dager (n=9), besetning A	0,5888
Selvdøde 20 dager pluss friske 21 dager (n=21) kontra selvdøde 34 dager (n=9), besetning A	0,5092
Frisk (n=31) kontra selvdød (n=15)	0,0155

4. Diskusjon

Fra litteraturstudiet kunne vi forventet mer stress og høyere kortikosteron-nivå hos konvensjonelle slaktekyllinger sammenlignet med økologiske eggproduksjonshøns, som hadde stort areal og god mulighet til naturlig adferd, både innendørs og utendørs. Vi hadde forventet høyere nivå av kortikosteron hos selvdøde slaktekyllinger enn hos friske slaktekyllinger, gitt at de selvdøde kyllingene hadde vært syke, skada og stressa over noe tid.

Som forventet hadde økologiske eggproduksjonshøns signifikant lavere nivå av kortikosteron i fjær sammenlignet med slaktekylling, men dette skyldtes at fuglene fra den ene besetningen med slaktekylling hadde høyt nivå av kortikosteron. Når man sammenlignet økologiske høns med kun den andre besetningen, var det ingen signifikant forskjell mellom de økologiske hønsene og de konvensjonelle slaktekyllingene.

Opplysningene vi har registrert om de to besetningene med slaktekyllinger tyder på at dette var to svært like og vanlige konvensjonelle besetninger med slaktekylling. Vi kjenner ikke til forhold i miljøet eller andre faktorer som kan ha gjort at kyllingene i den ene besetningen har opplevd mer stress sammenlignet med kyllingene i den andre besetningen. Ikke bare ser de ut til å ha likt miljø, de er også kjøpt inn fra samme sted og er av samme rase. Det ble ikke observert forskjell i sykdom, dødelighet eller tilvekst. Den eneste forskjellen vi mener kan finnes mellom besetning A og B er røkteren, men i dette forsøket har vi ikke gjort registreringer på røkteradferd.

Vi så ingen signifikant forskjell i kortikosteron fra økologiske eggproduksjonshøns i besetning C sammenlignet med de konvensjonelle slaktekyllingene i besetning A. Hønsene i besetning C lever i et svært godt miljø, de lever i en liten flokk, noe som er naturlig for høns. De har god plass inne, og fri tilgang til et stort uteområde hver dag, hvor de har mulighet til å bruke mye tid på fôrrelatert atferd med å rote i gress og jord. Slaktekyllingene lever derimot kun innendørs, i en stor hall med mange tusen kyllinger sammen, og har høy dyretetthet, spesielt rett før slakt. Disse har kun hverandre, flis på golvet, samt kraftfôr og vann og holde på med. Med en så stor forskjell i miljøet, fant vi likevel ingen signifikant forskjell i kortikosteron-nivået i fjær. I kyllinghusene er klimaet nøye regulert med godt tilpasset temperatur og luft, samt tilpasset kunstig lysregulering for at slaktekyllingenes skal holde seg rolige og ikke bli stresset til tross for et unaturlig miljø med få berikelser.

Det var forventet at selvdøde slaktekyllinger skulle ha høyere nivå av kortikosteron i fjær fordi disse sannsynligvis har opplevd mer stress grunnet sykdom eller skader, sammenlignet med de levende eller avlivede fuglene som var antatt å være friske og normale. Derimot så vi det motsatte fordi slaktekyllingene fra besetning B, som var antatt friske, hadde det høyeste nivået av kortikosteron i fjær. Når man så på friske kontra selvdøde ved samme alder fra besetning A var det ingen signifikant forskjell.

Grunnen til at selvdøde og friske slaktekyllinger i samme besetning hadde samme nivå av kortikosteron i fjær kan være at de døde kyllingene har dødd av akutt sykdom eller hjertestans og at stresset de da har opplevd ikke har rukket å påvirke nivået av kortikosteron i de voksende fjærene.

Vi hadde også forventet et høyere nivå av kortikosteron hos eldre sammenlignet med yngre slaktekylling i samme besetning ettersom de får høyere dyretetthet når de vokser seg større, i tillegg blir det større belastning på bein og på indre organer etter hvert som de blir større og tyngre. Det så ut til å være en liten forskjell her men ikke signifikant.

5. Konklusjon

Målingene gjort av kortikosteron i fjær viste at det var høyt innhold av kortikosteron i fjær fra besetning B med slaktekylling sammenlignet med de andre gruppene med fjørfe. I denne besetningen var det kun målt kortikosteron i fjær fra avlivede, 35 dager gamle kyllinger som var antatt friske og normale. Kyllingene i besetning A, både selvdøde og friske ved 20 og 21 dager, samt selvdøde ved 34 dager hadde lavt nivå av kortikosteron i fjær, uten signifikante forskjeller. Kortikosteron-nivå i fjær fra økologiske høns var også lavt, og det var ingen signifikante forskjeller mellom disse og de i kyllingbesetningen med lavest nivå av kortikosteron i fjær. Vi har ikke klart å finne noen forskjeller i miljø eller lignende i de to ulike besetningene med slaktekyllinger som skulle tilsa mer stress i den ene besetningen.

Litteraturgjennomgang viser flere resultater fra ville fugler, som indikerer at kortikosteron i fjær øker når fuglen er utsatt for ytre stress i form av miljøgifter, dårlig vær, lite mat, parasitter med mer. I dette prosjektet har målemetoden vi har brukt fanget opp forskjeller i kortikosteronnivå i ulike besetninger. Det bør derfor undersøkes nærmere i et større prosjekt, med et større antall dyr og under kontrollerte betingelser om målinger av kortikosteron i fjær kan anvendes som en praktisk velferdsindikator i ulike driftssystemer for fjørfe.

Når det gjelder andre dyrearter, er det gjort en rekke studier på blant annet storfe, marsvin, hund og kanin for å undersøke om kortisol i hår kan være en velegnet velferdsindikator. I de fleste publikasjonene hevdes det at det kan være god grunn til videre arbeid med validering av hårkortisol som stressindikator hos husdyr. Nylig publiserte resultater fra undersøkelser av hårkortison hos sau, samt resultater fra den andre delen av dette prosjektet, viser at hårkortison kan være egnet som en biomarkør for kronisk stress hos lam.

6. Referanser

- Bortolotti GR, Marchant T, Blas J, Cabezas S. 2009. Tracking stress: localisation, deposition and stability of corticosterone in feathers. *J Exp Biol* [Internet]. 212:1477–1482. Available from: <http://jeb.biologists.org/cgi/doi/10.1242/jeb.022152>
- Bortolotti GR, Marchant TA, Blas J, German T. 2008. Corticosterone in feathers is a long-term, integrated measure of avian stress physiology. *Funct Ecol*. 22:494–500.
- Broom DM, Johnson KG. 1993. *Stress and Animal welfare*. 1st editio. Hall C and, editor. London.
- Burnett TA, Madureira AML, Silper BF, Tahmasbi A, Nadalin A, Veira DM, Cerri RLA. 2015. Relationship of concentrations of cortisol in hair with health, biomarkers in blood, and reproductive status in dairy cows. *J Dairy Sci* [Internet]. 98:4414–4426. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030215002921>
- Bøe KE, Andersen IL, Simensen E. 2004. Effekt av lav temperatur på fysiologisk respons og valg av liggeunderlag for geit. :0–16.
- Carbajal A, Tallo-Parra O, Sabes-Alsina M, Mular I, Lopez-Bejar M. 2014. Feather corticosterone evaluated by ELISA in broilers: A potential tool to evaluate broiler welfare. *Poult Sci* [Internet]. 93:2884–2886. Available from: <https://academic.oup.com/ps/article-lookup/doi/10.3382/ps.2014-04092>
- El-Iethy H, Jungi TW, Huber-Eicher B. 2001. Effects of feeding corticosterone and housing conditions on feather pecking in laying hens (*Gallus gallus domesticus*). *Physiol Behav*. 73:243–251.
- Fairhurst GD, Frey MD, Reichert JF, Szelest I, Kelly DM, Bortolotti GR. 2011. Does environmental enrichment reduce stress? An integrated measure of corticosterone from feathers provides a novel perspective. *PLoS One*. 6:1–10.
- Fairhurst GD, Marchant TA, Soos C, Machin KL, Clark RG. 2013. Experimental relationships between levels of corticosterone in plasma and feathers in a free-living bird. *J Exp Biol* [Internet]. 216:4071–4081. Available from: <http://jeb.biologists.org/cgi/doi/10.1242/jeb.091280>
- Fairhurst GD, Vögeli M, Serrano D, Delgado A, Tella JL, Bortolotti GR. 2013. Can synchronizing feather-based measures of corticosterone and stable isotopes help us better understand habitat-physiology relationships? *Oecologia*. 173:731–743.
- Harms NJ, Legagneux P, Gilchrist HG, Bety J, Love OP, Forbes MR, Bortolotti GR, Soos C. 2014. Feather corticosterone reveals effect of moulting conditions in the autumn on subsequent reproductive output and survival in an Arctic migratory bird. *Proc R Soc B Biol Sci* [Internet]. 282:20142085–20142085. Available from: <http://rspb.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rspb.2014.2085>
- Hill RW. 2012. *Animal Physiology*. 3rd. editi. [place unknown]: Sinauer Associates.
- Hörak P, Männiste M, Meitern R, Sild E, Saks L, Sepp T. 2013. Dexamethasone inhibits corticosterone deposition in feathers of greenfinches. *Gen Comp Endocrinol*. 191:210–214.
- Husebye E. 2018. Kortison. SNL - Store Med Leks [Internet]. [cited 2018 Mar 21]. Available from: <https://sml.snl.no/kortison>
- Kittilsen S. 2009. *Stress responsiveness in salmonid fish: The cortisol response and associated traits*. Oslo: Norwegian University of Life Sciences, Department of Animal and Aquacultural Sciences.
- Koren L, Nakagawa S, Burke T, Soma KK, Wynne-Edwards KE, Geffen E. 2012. Non-breeding feather concentrations of testosterone, corticosterone and cortisol are associated with subsequent survival in wild house sparrows. *Proc R Soc B Biol Sci* [Internet]. 279:1560–1566. Available from: <http://rspb.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rspb.2011.2062>
- Lattin CR, Reed JM, DesRochers DW, Romero LM. 2011. Elevated corticosterone in feathers correlates with

corticosterone-induced decreased feather quality: a validation study. *J Avian Biol.* 42:247–252.

Lefcourt AM, Bitman J, Kahl S, Wood DL. 1993. Circadian and Ultradian Rhythms of Peripheral Cortisol Concentrations in Lactating Dairy Cows. *J Dairy Sci.* 76.

López-Jiménez L, Blas J, Tanferna A, Cabezas S, Marchant T, Hiraldo F, Sergio F. 2017. Lifetime variation in feather corticosterone levels in a long-lived raptor. *Oecologia.* 183:315–326.

Lovdata. 2006. Forskrift om hold av høns og kalkun. Landbruks- og matdepartementet [Internet]. Available from: <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2001-12-12-1494>

Martínez-Padilla J, Mougeot F, García JT, Arroyo B, Bortolotti GR. 2013. Feather Corticosterone Levels and Carotenoid-Based Coloration in Common Buzzard (*Buteo buteo*) Nestlings. *J Raptor Res.* 47:161–173.

Mattilsynet. 2017. Veileder til økologiforskriften (forskrift om økologisk produksjon og merking av økologiske landbruksprodukter, akvakulturprodukter, næringsmidler og fôr av 18.03.17 nr. 355) Regelverksveileder: Økologisk landbruk - Utfyllende informasjon om regelverket f [Internet]. Available from: https://www.mattilsynet.no/om_mattilsynet/gjeldende_regelverk/veiledere/veileder_okologisk_landbruk.2651/binary/Veileder_økologisk_landbruk

Moberg GP, Mench JA. 2000. *The Biology of Animal Stress - Basic principles and Implications for Animal Welfare.* New York: Department of Animal Science, University of California, Davis, USA.

NHI. 2015. Kortison. Nor helseinformatikk [Internet]. [cited 2018 Mar 21]. Available from: <https://nhi.no/sykdommer/allergi/diverse/kortison/>

Patterson AGL, Kitaysky AS, Lyons DE, Roby DD. 2015. Nutritional stress affects corticosterone deposition in feathers of Caspian tern chicks. *J Avian Biol.* 46:18–24.

Romero LM, Storchlic D, Wingfield JC. 2005. Corticosterone inhibits feather growth: Potential mechanism explaining seasonal down regulation of corticosterone during molt. *Comp Biochem Physiol - A Mol Integr Physiol.* 142:65–73.

Sild E, Meitern R, Männiste M, Karu U, Hõrak P. 2014. High feather corticosterone indicates better coccidian infection resistance in greenfinches. *Gen Comp Endocrinol* [Internet]. 204:203–210. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2014.05.026>

Strong RJ, Pereira MG, Shore RF, Henrys PA, Pottinger TG. 2015. Feather corticosterone content in predatory birds in relation to body condition and hepatic metal concentration. *Gen Comp Endocrinol.* 214:47–55.

Wikipedia. 2018. Hypothalamus [Internet]. [cited 2018 Mar 23]. Available from: <https://en.wikipedia.org/wiki/Hypothalamus>

Will AP, Suzuki Y, Elliott KH, Hatch SA, Watanuki Y, Kitaysky AS. 2014. Feather corticosterone reveals developmental stress in seabirds. *J Exp Biol* [Internet]. 217:2371–2376. Available from: <http://jeb.biologists.org/cgi/doi/10.1242/jeb.098533>



www.norsok.no



Norsk senter for økologisk landbruk, NORSØK er ei privat, sjølvstendig stifting.
Stiftinga er eit nasjonalt senter for tverrfaglig forskning og kunnskapsformidling for å utvikle økologisk landbruk.

NORSØK skal bidra med kunnskap for eit meir berekraftig landbruk og samfunn.
Fagområda er økologisk landbruk og matproduksjon, miljø og fornybar energi.

Norsk senter for økologisk landbruk / Gunnars veg 6 / NO-6630 TINGVOLL / Telefon: +47 930 09 884 / E-post: post@norsok.no