

C MATERIAL UND METHODEN

1 Untersuchungsmaterial

1.1 Versuchsanordnung

Anhand der vorliegenden Untersuchungen sollte herausgefunden werden, ob eine fünffache Erhöhung des supplementierten Biotingehaltes des Futters von Putenzuchthennen einen positiven Effekt auf die Befruchtungs- und Schlupfrate sowie auf die Fußballenbeschaffenheit der Nachkommen hat.

Zu diesem Zweck wurden insgesamt 9500 weibliche Putenelterniere der schweren Mastlinie der Herkunft BUT (British United Turkeys) Big 6 in zwei Fütterungsgruppen unterteilt und unter Feldbedingungen gehalten. Während einer vierwöchigen Anfütterungsphase erhielt ein Teil der Putenhennen bis zum Legebeginn in der 32. Lebenswoche praxisübliche 400 µg Biotin/kg Futter und diente als Standardgruppe, während dem zweiten Teil (Testgruppe) 2000 µg Biotin/kg Futter verabreicht wurden. Um eventuell auftretende Alterseinflüsse der Putenhennen zu erfassen, wurden die Untersuchungen an zwei unterschiedlichen Zeitpunkten durchgeführt, d. h. am Anfang (4. Legewoche, Termin I) und am Ende (20. Legewoche, Termin II) der Reproduktionsphase.

Anhand des Biotingehaltes von zusätzlichen Bruteiern und den Kükenlebern erfolgte die Überprüfung des Umfangs der Biotinübertragung von den Putenlegehennen auf die Nachzucht. Da auch Truthuhnküken unter krankhaften Fußballenveränderungen leiden, wurde der indirekte Einfluss der beiden unterschiedlichen Biotinsupplementationen des Zuchthennenfutters auf die Fußballengesundheit der Nachkommen zu beiden Reproduktionszeitpunkten (4. und 20. Legewoche) geprüft. Hierfür wurden Gewebeproben des Metatarsalballens der verschiedenen foetalen Entwicklungsstadien des 20., 23., 26. und 28. Bebrütungstages entnommen und untersucht. Außerdem erfolgte die Haltung männlicher Eintagsküken beider Putenhennen-Fütterungsgruppen unter experimentellen Bedingungen bis zur dritten Lebenswoche. Täglich fand eine makroskopische Kontrolle der Nachkommen auf Symptome einer krankhaften Fußballenveränderung hin statt und im Alter von 7, 14 und 21 Tagen wurden Metatarsalballenproben gesammelt und untersucht. Die Haltung und Tötung der Küken erfolgte mit Genehmigung der zuständigen Behörde (Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit Berlin (LAGetSi)).

Tabelle 1: Biotinsupplementierungsgrad der beiden Putenhennen-Fütterungsgruppen und der Nachkommen in Abhängigkeit vom Reproduktionszeitpunkt (Termin)

Putenhennen				
Termin	I. (4. Legewoche)		II. (20. Legewoche)	
Biotingehalt des Futters pro kg¹	Standard 400 µg/kg	Test 2000 µg/kg	Standard 400 µg/kg	Test 2000 µg/kg
Nachkommen				
Biotingehalt des Futters pro kg¹	220 µg/kg	220 µg/kg	220 µg/kg	220 µg/kg

¹ Menge des supplementierten, bioverfügbaren Biotins ohne Berücksichtigung des nativen Biotingehaltes des Futters

1.2 Haltungbedingungen und Fütterung der Küken

Während der gesamten Projektdauer wurden die unter experimentellen Bedingungen aufgezogenen Küken getrennt nach Fütterungsgruppe der Putenhennen in praxisüblicher Bodenhaltung aufgestellt. Die Unterbringung jeder Kükenschar fand auf einer etwa 10 cm dicken, nicht vorbehandelten Weichholz-Hobelspanschicht statt, auf der ab der ersten Woche Langstroh verteilt wurde. Täglich erfolgte ein Austausch der Streu um die Futter- und Wassereinrichtungen, während der gesamte Stall jeden zweiten Tag komplett gesäubert und neu eingestreut wurde. Außerdem stand jeder Kükengruppe ein Rotlicht-Wärmestrahler, eine zusätzliche dimmbare Beleuchtungsquelle, eine Glockentränke und ein Futtertrog zur Verfügung. Innerhalb der Eingewöhnungsphase wurde den Küken das pelletierte Futter zusätzlich auf Eierhöckern angeboten. Die Tieren erhielten frisches Wasser und Futter ad libitum. Die Regulation der Raumtemperatur bzw. der Beleuchtung und die Frischluftversorgung erfolgte automatisch. Alle Küken bekamen ein zweiphasiges Aufzuchtfutter, das 220 µg bioverfügbares Biotin/kg enthielt. Das Futter der ersten Phase wurde bis einschließlich der zweiten Lebenswoche verabreicht und unterschied sich vor allem durch seinen höheren Rohproteingehalt von dem der zweiten Phase.

1.3 An den Nachkommen erhobene Meßparameter und Probenumfang

Zu jedem Entnahmeterrin wurden an sieben verschiedenen Stadien der Entwicklung (20., 23., 26., 28. Bebrütungstag und 7., 14., 21. Lebenstag) je fünf zufällig ausgewählte Bruteier bzw. Nachkommen je Fütterungsgruppe der Putenhennen entnommen. Dadurch ergab sich

pro Fütterungsgruppe der weiblichen Elterntiere ein Stichprobenumfang von 35 Puten, 70 Tiere je Termin. Insgesamt wurden 140 Puten aus der Nachzucht der laut Projektanordnung gefütterten Legehennen untersucht. Täglich wurden die Nachkommen makroskopisch auf ihren Allgemeinzustand und auf das Vorliegen von Symptomen eines Biotinmangels hin überprüft. Nach der Tötung wurden von den noch nicht geschlüpften Tieren (bis einschließlich des 26. Bebrütungstages) das Ei-, Schalen-, Körper- sowie das Lebergewicht ermittelt und, soweit noch nicht in die Bauchhöhle verlagert, das Dottergewicht bestimmt sowie die Körperlänge gemessen. Von den bereits geschlüpften Küken wurden das Körper- und Lebergewicht und die Körperlänge aufgezeichnet.

Tabelle 2: Überblick über den Probenumfang und die erhobenen Meßparameter der Entnahmetermine I und II

Probenumfang pro Fütterungsgruppe der Truthennen					
Termin	I. (4. Legewoche)		II. (20. Legewoche)		erhobene Gewichts- und Längenparameter
Bebrütungs- bzw. Lebenstag	Standard 400 µg/kg	Test 2000 µg/kg	Standard 400 µg/kg	Test 2000 µg/kg	
20.	5	5	5	5	E, K, D, S, L, Kl
23.	5	5	5	5	E, K, D, S, L, Kl
26.	5	5	5	5	E, K, D, S, L, Kl
28.	5	5	5	5	K, L, Kl
7.	5	5	5	5	K, L, Kl
14.	5	5	5	5	K, L, Kl
21.	5	5	5	5	K, L, Kl
	35	35	35	35	
	70		70		
Tierzahl gesamt	140				

E=Eigewicht, K=Körpergewicht, D=Dottergewicht, S=Schalengewicht, L=Lebergewicht, Kl=Körperlänge (Schnabelspitze bis Endpunkt der dritten Zehe)

1.4 Probennahme vom Metatarsalballen der Nachkommen

Nach der makroskopischen Beurteilung des Gesundheitszustandes der Fußballen der Nachkommen beider Putenhennen-Fütterungsgruppen erfolgte die Entnahme von Gewebeproben für die mikroskopische und ultrastrukturelle Untersuchung. Zu diesem Zweck wurde die Epidermis samt Dermis und teilweise auch die Subkutis der Metatarsalballen mit einem Skalpell abgetragen. Die Proben wurden entweder sofort in KARNOVSKY-Fixans (1965) oder in eine lanthanhaltige Lösung verbracht, beschriftet und bis zur Weiterverarbeitung gekühlt aufbewahrt. Es ist zu beachten, dass die Fixierung möglichst umgehend stattfinden sollte, um schnell einsetzenden Zersetzungsprozessen und Strukturveränderungen der Gewebe vorzubeugen.

1.5 Futterproben der Putenhennen

Vor der Bruteieinlage für Termin I und bis zu Termin II fand eine Überprüfung der Biotin-gehalte des Futters der beiden Legehennengruppen sechs Mal statt. Hierzu wurden von den auf den Farmen verabreichten Futtermittelchargen beider Truthennen-Fütterungsgruppen Proben entnommen, in Plastiktüten eingeschweißt, beschriftet und der mikrobiologischen Biotinanalyse zugeführt.

1.6 Bruteiprobe der Putenhennen

Obwohl man davon ausgehen kann, dass sich die Vitaminübertragung ins Ei sehr schnell nach der Futterumstellung stabilisiert, wurde für dieses Projekt erst nach einer achtwöchigen Fütterungsphase, in der vierten Legewoche, eine Biotinanalyse der Bruteier beider Fütterungsgruppen durchgeführt. Eine Biotinanalyse weiterer Eier erfolgte in der zwanzigsten Legewoche (Produktionswoche). Es galt der Vermutung nachzugehen, ob der Putenfoetus in der Lage ist, das avidingebundene Biotin aus dem Eiklar zu verstoffwechseln. Deshalb wurde der Biotingehalt von Dotter und Eiklar separat analysiert. Außerdem sollte herausgefunden werden, ob das Alter der Legehennen (Termin) einen Einfluss auf die in den Bruteiern eingelagerte Biotinmenge hat. Käme es tatsächlich zum Ende der Legesaison zu einer verminderten Biotinspeicherung im Brutei (Biotinübertragungsinsuffizienz), sollten die Konsequenzen für die Nachzucht beschrieben werden.

1.7 Leberproben der Putenküken

Um den Übertragungsgrad des Biotins vom mütterlichen Organismus auf die Nachzucht zu überprüfen, wurden von den Tieren des 27. und 28. Bebrütungstages die Lebern entnommen, makroskopisch untersucht, gewogen und auf ihren Biotingehalt hin analysiert.

2 Untersuchungsmethoden

2.1 Biotinanalyse

Der quantitative Biotinnachweis der Futterproben der Putenhennen, der Bruteier (Dotter und Eiklar getrennt) und der Lebern der Nachkommen wurde in den Laboratorien der Firma Hoffmann-La Roche vorgenommen. Die Analyse erfolgte anhand eines mikrobiologischen Untersuchungsverfahrens. Hierbei fand eine hydrolytische Methode Anwendung bei der, nach der Biotinfreisetzung, *Lactobacillus plantarum* als Testorganismus diente.

2.2 Makroskopische Beurteilung der Metatarsalballen der Nachkommen

Da von den Nachkommen Proben für die weiterführenden Untersuchungen entnommen wurden, erfolgte eine sanfte aber gründliche Säuberung der Füße mit Wasser. Danach wurden mit Hilfe einer Digitalkamera Photographien der Fußballen angefertigt, um den makroskopischen Zustand der Haut am Fußballen zu dokumentieren. Die Reinigung bietet den Vorteil, dass eine sachliche und objektive Beurteilung der Fußballengesundheit, ohne die Gefahr der Fehlinterpretation durch Verschmutzungen, möglich ist (Abbildung 1).

Bisher fand eine Aufzeichnung und Bewertung des Auftretens von Fußballendermatitiden und -läsionen beim Geflügel nur an Schlachttieren statt. Die für Schlachtputen von EKSTRAND und ALGERS (1997) verwendete Läsionenklassifikation konnte für die jungen Tiere nicht übernommen werden, sondern musste speziell an die pathologischen Befunde der Kükenhaut angepasst werden. Pro Termin und Tier wurden alle Beobachtungen mit Hilfe des folgenden Befundschlüssels beurteilt. Dabei wurden die Metatarsalballen beider Füße zunächst lediglich daraufhin untersucht, ob krankhafte Veränderungen vorlagen oder nicht. Anhand dieser Kriterien wurden die Befunde in zwei Hauptklassen (Klasse A: keine Veränderungen und B: Veränderungen) unterteilt. Aufgrund der Beobachtung, dass sich die pathologischen Fußballenveränderungen in ihrem klinischen Erscheinungsbild unterschieden, wurden innerhalb von Klasse B drei Ausprägungsgrade differenziert (Abbildung 3).

Tabelle 3: Bewertungskriterien der makroskopischen Beurteilung der Metatarsalballengesundheit von Putenküken

Bewertung		Bewertungskriterien
Klasse A		keine Veränderungen
	Grad 0	regelmäßige kuppelartige Form der reticulate scales, gleichmäßige Höhe, zartrosa bis hellgelbe Farbe
Klasse B		Veränderungen (Verlängerung der reticulate scales und Farbabweichungen)
	Grad 1	Rötung (Erythem)
	Grad 2	bräunliche Verfärbung
	Grad 3	bräunliche Verfärbung, Verlängerung (Hyperkeratose) und plattenartige Verbindung mehrerer reticulate scales

2.3 Lichtmikroskopische Techniken (LIMI)

2.3.1 Herstellung und Färbung von Paraffinschnitten

Die Paraffineinbettung

Zur besseren Darstellung und Identifikation peridermaler Granula wurden nur Hautproben des 20. und 23. Bebrütungsstages in Paraffin eingebettet. Hierzu war ein Fixanswechsel von KARNOVSKY (1965) in ein 4%iges Formol-Calcium-Gemisch nach BAKER (1946) nötig, in dem die Proben mindestens 24-48 Stunden verblieben. Nach der Immersionsfixation wurden die Hautproben mit einem Skalpell auf eine Kantenlänge von 0,5 x 0,2 x 0,2 cm zugeschnitten und eine Stunde lang unter fließendem Leitungswasser gespült. Um einen Verlust der Gewebestückchen zu vermeiden wurden die Proben aufgrund ihrer geringen Größe in speziellen Präparatekapseln aus Metall verbracht. Die Entwässerung durch eine aufsteigende Alkoholreihe und anschließende Imprägnierung mit Xylol und Paraffin erfolgte vollautomatisch in einem speziellen Gewebeeinbettungsgerät (Histokinette). Danach wurden die Proben in Metallformen mit flüssigem Paraffin zu Blöckchen ausgegossen.

Die Anfertigung von Paraffinschnitten

Nach dem Aushärten des Paraffins wurden von den Probenblöcken am Schlittenmikrotom (Firma Reichert, Austria) Schnitte in einer Dicke von 5-7 µm abgenommen und im Streckbad (circa 50 °C) geglättet. Um die Haftung der Schnitte zu erhöhen, wurden sie auf mit

3-Aminopropyltriethoxy-Silane beschichtete Objektträger aufgezogen und über Nacht bei 37 °C im Brutschrank getrocknet.

Die Entparaffinierung

Da es sich bei der verwendeten Färbung um eine wässrige Lösung handelte, mußte das fetthaltige Paraffin in den Schnitten durch das Lösungsmittel Xylol ersetzt werden. Anschließend wurde das Lösungsmittel mit Hilfe einer absteigenden Alkoholreihe mittels Wasser verdrängt.

Die histologische Übersichtsfärbung

Es wurde eine Hämatoxylin-Eosin-Übersichtsfärbung (H.E.-Färbung) aus ROMEIS (1989) gewählt. Die Schnitte wurden im noch feuchten Zustand eingedeckt.

2.3.2 Herstellung und Färbung von Kunststoffschnitten

Die Kunststoffeinfettung (Epoxidharz AGAR 100)

Die nach KARNOVSKY (1965) fixierten Hautproben wurden mit einem Skalpell auf eine Kantenlänge von 0,5 x 0,2 x 0,2 cm zugeschnitten und mehrmals in 0,1 M Na-Cacodylatpuffer (pH 7,4) gespült. Anschließend wurden die Gewebestückchen für 12 Stunden in 1%igem Osmiumtetroxid nachfixiert und vorkontrastiert. Nach erneutem mehrmaligem Spülen in Na-Cacodylatpuffer erfolgte die Entwässerung über eine aufsteigende Alkoholreihe, wobei im 70%igen Alkohol eine einstündige Blockkontrastierung mit 0,5%igem Uranylacetat und 1%iger Phosphorwolframsäure stattfand. Nach dem Abschluss der Dehydrierung wurden die Proben über Nacht in einem Propylenoxyd-Agar 100 Gemisch im Verhältnis 1:1 auf einem Schüttler infiltriert, wobei das Propylenoxid verdunstete. Nachdem sie fünf Stunden lang in einem frischen Agar 100 Gemisch mittlerer Härte (Firma Agar Scientific Ltd.) verblieben, folgte die Einbettung der Proben in Embeddingmolds, die mit Epoxidharz ausgegossen wurden. Nach einer 48 stündigen Polymerisation bei 50 °C im Brutschrank waren die Kunststoffblöckchen fertig zur weiteren Bearbeitung.

Die Anfertigung von Semidünnschnitten

Bevor die 0,5-0,7 µm dicken Semidünnschnitte mit einem Glasmesser am Ultramikrotom Ultracut-E (Firma Reichert-Jung, Heidelberg) angefertigt werden konnten, wurde der überschüssige Kunststoff mit einer Diamantfräse (TM 60, Firma Reichert-Jung, Heidelberg) abgetrimmt.

Die Färbung der Kunststoffschnitte

Die Semidünnschnitte wurden im Wasserbad gestreckt, auf entfettete Objektträger aufgezogen und bei 80 °C auf einer Heizplatte getrocknet. Anschließend erfolgte die Färbung der Schnitte mit gefiltertem Methylenblau-Azur-II nach Richardson (ROMEIS, 1989).

2.3.3 Darstellung der Permeabilitätsbarrierefunktion der Putenepidermis mittels Lanthannitrat-Tracer

Bisher wurden noch keine Untersuchungen zur Permeabilitätsbarrierefunktion der Putenkühenhaut mittels Lanthannitrat-Tracer durchgeführt. Es handelte sich also um eine Grundlagenforschung, die zum Verständnis der physiologischen Hautstruktur und -funktion beitragen sollte. Daher erfolgten diese Untersuchungen nur an Nachkommen von Putenhennen, die mit einer Standardbiotinsupplementierung des Futters (400 µg Biotin/kg Futter) versorgt wurden. Die Darstellung der Permeabilitätsbarrierefunktion der makroskopisch intakten Fußballenhaut fand nur an Proben von klinisch gesund erscheinenden Putenkühen im Alter von einer Woche statt.

Um die Barrierefunktion der Putenepidermis zu überprüfen, wurde der Permeabilitätsgrad der Haut mittels wasserlöslichem stark elektronendichtem Lanthannitrat-Tracers sichtbar gemacht (HASHIMOTO, 1971c). Da die Immersionstechnik vergleichbare Resultate zur Perfusionstechnik liefert, kam die einfachere Immersionsmethode zur Anwendung (CAMBROSIO MANN et al., 2003; HAYWARD, 1983).

Kurz nach der Entnahme wurden die Gewebestückchen in eine 2%ige Na-cacodylatgepufferte Glutaraldehydlösung (pH 7,4) verbracht, die 1%iges Lanthannitrat enthielt. Die Immersionsfixation dauerte 12 bzw. 24 Stunden und fand sowohl bei 4 °C (HASHIMOTO, 1971c) als auch bei Raumtemperatur statt. Danach wurden die Proben 6-12 Stunden lang in einer cacodylatgepufferten, 1%igen Lanthannitratlösung gespült und zwei Stunden lang mit 1%igem Osmiumtetroxid nachfixiert sowie kontrastiert. Nach erneutem mehrmaligem Spülen der Proben mit Na-Cacodylatpuffer (pH 7,4) folgte die Entwässerung über eine absteigende Alkoholreihe, wobei dem 70%igen Alkohol kein Kontrast- oder Färbemittel zugesetzt wurde, um den Markerstoff möglichst deutlich vom Gewebe differenzierbar zu machen. Das weitere Verfahren erfolgte wie bei den oben beschriebenen nach KARNOVSKY (1965) fixierten Hautproben.

2.3.4 Morphometrie

Um die Hautarchitektur der reticulate scales am Sohlenballen der Puten beurteilen und vergleichen zu können, fand eine histometrische Untersuchung der für die Lichtmikroskopie angefertigten Semidünnschnitte statt. Unter dem Axioskop (Zeiss, Oberkochen) wurde im histologischen Übersichtspräparat ein geeignetes Epidermisareal aufgesucht, mittels integrierter Kamera (Sony 3CCD, Modell DXC 930 P) digitalisiert und auf den Monitor eines angeschlossenen Computers übertragen. Mit dem Morphometrieprogramm Lucia 32-G, Corona Version 4.11 (Firma Nikon, Deutschland) wurden folgende Parameter erhoben:

- a. Länge der reticulate scale
- b. Furchentiefe zwischen benachbarten reticulate scales (Interpapillärbereich)
- c. Furchenbreite im oberen Drittel des Interpapillärbereiches

Suprapapillär

dermaler Sekundärpapillengrund

- d. Epidermisdicke
- e. Lebender Anteil der Epidermis
- f. Stratum basale (SB)
- g. Stratum intermedium (SI)
- h. Stratum corneum (SC)

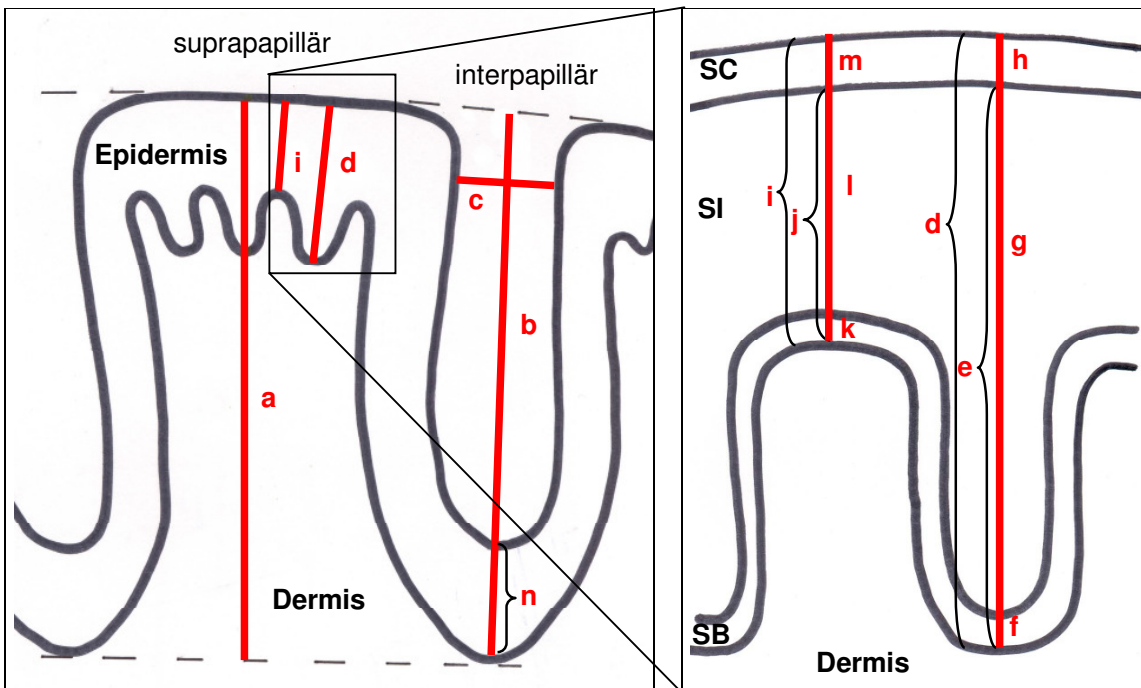
dermale Sekundärpapillenspitze

- i. Epidermisdicke
- j. Lebender Anteil der Epidermis
- k. Stratum basale (SB)
- l. Stratum intermedium (SI)
- m. Stratum corneum (SC)

Interpapillär (Furchengrund)

- n. Epidermisdicke
- o. Lebender Anteil der Epidermis
- p. Stratum basale (SB)
- r. Stratum intermedium (SI)
- s. Stratum corneum (SC)

Da davon auszugehen war, dass die reticulate scales nur selten axial angeschnitten waren, wurde pro Tier eine möglichst ideal getroffene reticulate scale ausgemessen.



Textabbildung 2: Darstellung einiger ausgemessener Parameter anhand von Hautskizzen

Zur Ermittlung der verschiedenen Parameter wurden die Längen interaktiv markiert und in eine EXCEL 97-Tabelle (Firma Microsoft) überführt, in der weitere Berechnungen der strukturellen Werte vorgenommen wurden.

2.4 Elektronenmikroskopische Techniken

2.4.1 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)

Da die in der Literatur beschriebenen Befunde der Geflügelhaut vor allem auf lichtmikroskopischen Untersuchungen basieren, wurden für dieses Projekt anhand der gefärbten Semidünnschnitt-Übersichtspräparate besonders geeignete Gewebeabschnitte für die weitere ultrastrukturelle Untersuchung am Elektronenmikroskop ausgewählt. Nach dem präzisen Zutrimmen der markierten Areale wurden an einem Ultramikrotom Ultracut-E (Firma Reichert-Jung, Heidelberg) mit einem Diamantmesser 50-60 nm dicke Schnitte hergestellt, die auf kunststoffbefilmte Nickelgrids aufgezogen und nach VENABLE und COGGESHALL (1965) mit stabilisiertem Bleizitrat und Uranylacetat kontrastiert wurden. Bei den Schnitten, die aus dem Lanthantracerversuch stammten, unterblieb die Kontrastierung, um die Markersubstanz deutlicher abgrenzen zu können (CAMBROSIO MANN et al., 2003). Die Betrachtung und Auswertung erfolgte an einem Transmissionselektronenmikroskop EM 10 CR (Firma Zeiss AG, Oberkochen).

2.4.2 Rasterelektronenmikroskopie (SEM)

Anfertigung der Proben zur Darstellung der Hautoberfläche

Die in KARNOVSKY (1965) fixierten Hautproben wurden auf eine Größe von 0,5 x 0,5 x 0,5 cm zugeschnitten und in 0,1 Mol/l Cacodylatpuffer gespült. Anschließend wurden die Proben 12 Stunden lang mit 1%igem Osmiumtetroxid behandelt und erneut in 0,1 Mol/l Cacodylatpuffer gespült. Die Entwässerung erfolgte über eine aufsteigende Alkoholreihe, nach deren Abschluss die Proben in Hexamethyldisilazane (HMDS, ROTH®, Karlsruhe) einer chemikalischen Substitution unterzogen wurden. Die Proben wurden mit der zu betrachtenden Oberfläche nach oben mit Nadeln auf Filterpapier befestigt und über Nacht getrocknet. Danach wurden die Gewebestückchen mit Leit-C nach Göcke (Firma Plano, Marburg) auf Aluminiumteller geklebt und durch einen Sputtercoater (Firma Balzers SCD 050, Lichtenstein) mit Gold in einer Dicke von circa 30 nm beschichtet. Die Betrachtung und Auswertung erfolgte an einem Rasterelektronenmikroskop Nanolab 2000 (Firma Bausch und Lomb/Arl, Ottawa/Kanada).

2.5 Statistische Methoden und Analysen

Die statistische Aufbereitung und Auswertung der an den Nachkommen erhobenen Gewichts- bzw. Längenparameter sowie der morphometrischen Daten erfolgte mittels eines computergestützten Statistikprogrammes (SPSS 11.5 für Windows), wobei Methoden der beschreibenden und schließenden Statistik angewendet wurden.

Die Zusammenstellung der ermittelten Daten erfolgte tabellarisch und aus den für jedes Tier erhobenen Daten der selben Variablen wurde jeweils der arithmetische Mittelwert (\bar{x}) gebildet um den Durchschnitt der Einzelwerte zu ermitteln. In diesem Zusammenhang wurde die Standardabweichung (s) und die Minimal- bzw. Maximalwerte zur Quantifizierung der Variationsbreite der Einzelwerte angegeben. Mit Hilfe des Levene-Tests fand die Überprüfung der Gruppen auf Gleichheit der Fehlervarianzen statt, wobei die Überschreitungswahrscheinlichkeit bei $p < 0,01$ lag.

Die Vergleiche der einzelnen Variablen zwischen den Gruppen erfolgte mittels univariater Varianzanalyse, dabei wurde bei einer Gruppengröße von $n=5$ eine annähernd symmetrische Verteilung der untersuchten Werte angenommen. Von statistisch signifikanten Effekten des Futters und des Termins wurden bei einer Überschreitungswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ ausgegangen, während eine Wechselwirkung erst bei einer Überschreitungswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$ angenommen wurde. Zur besseren vergleichend-graphischen Darstellung wurden speziell die Brutei- und Körpergewichte der Nachkommen in Form von Punktdiagrammen abgebildet.