

Aus dem Institut für Veterinär-Physiologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

**Der Einfluß einer kurzzeitigen Hypothermie
auf die Herzfrequenz und die Eiinnentemperatur
von Hühnerembryonen unterschiedlichen Alters**

Inaugural-Dissertation
zu Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ute Kalweit
Tierärztin aus Berlin

Berlin 1998
Journal-Nr. 2122

Unterstützt mit Mitteln der
Kommission zur Förderung des weiblichen wissenschaftlichen Nachwuchses
der Freien Universität Berlin

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ. Prof. Dr. K. Hartung
Erster Gutachter: Prof. Dr. H. Tönhardt
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. G. Monreal

Tag der Promotion: 13. Februar 1998

Inhaltsverzeichnis	Seite
<u>Abkürzungen</u>	6
A <u>Literatur</u>	
A 1. Einleitung und Zielstellung	7
A 2. Herz	8
A 2.1. Anatomische Grundlagen	8
A 2.2. Innervation	10
A 2.3. Entwicklung der Herzfrequenz	12
A 2.4. Methoden zur Erfassung der Herzfrequenz	14
A 3. Temperatur	16
A 3.1. Körpertemperatur	17
A 3.2. Umgebungstemperatur	17
A 3.3. Eiinnentemperatur	18
A 3.4. Wärmeproduktion	20
A 3.5. Temperaturregulation	21
A 4. Zusammenfassung der Literatur	27
B <u>Material und Methoden</u>	
B 1. Versuchseier	28
B 2. Versuchsvorbereitung	29
B 3. Kurzbeschreibung der Versuche	31
B 4. Signalaufnahme und Meßwerterfassung	33
B 4.1. Signalaufnahme und Meßwerterfassung der Herzfrequenz	33
B 4.2. Signalaufnahme und Meßwerterfassung der Eiinnentemperatur	35
B 5. Datenaufbereitung und statistische Analysen	36
B 5.1. Meßdatenvorverarbeitung	36
B 5.2. Statistische Analysen	38

Inhaltsverzeichnis

C	<u>Ergebnisse</u>	
C 1.	Auswertung der Herzfrequenz	41
C 1.1.	Herzfrequenzausgangswerte	41
C 1.2.	Herzfrequenz während der Abkühlung	43
C 1.3.	Herzfrequenz nach der Abkühlung	46
C 1.4.	Herzfrequenz während der Wiedererwärmung	48
C 1.5.	Wiedererreichen des Herzfrequenzausgangsniveaus	50
C 2.	Auswertung der Eiinnentemperatur	52
C 2.1.	Eiinnentempertur Ausgangswerte	52
C 2.2.	Eiinnentemperatur während der Abkühlung	56
C 2.3.	Eiinnentemperatur nach der Abkühlung	58
C 2.4.	Eiinnentemperatur während der Wiedererwärmung	61
C 2.5.	Wiedererreichen des Eiinnentempertur Ausgangsniveaus	63
C 3.	Korrelation zwischen Herzfrequenz und Eiinnentemperatur	66
C 3.1.	Korrelation zwischen Herzfrequenz und Eiinnentemperatur auf dem Ausgangsniveau	66
C 3.2.	Korrelation zwischen Herzfrequenz und Eiinnentemperatur während der Abkühlung	67
C 3.3.	Korrelation zwischen Herzfrequenz und Eiinnentemperatur nach der Abkühlung	70
C 3.4.	Korrelation zwischen Herzfrequenz und Eiinnentemperatur während der Wiedererwärmung	72
C 4.	Vergleich zwischen Eiern mit lebenden und getöteten Embryonen	76
C 4.1.	Eiinnentempertur Ausgangswerte	76
C 4.2.	Eiinnentemperatur während der Abkühlung	78
C 4.3.	Eiinnentemperatur nach der Abkühlung	81
C 4.4.	Eiinnentemperatur während der Wiedererwärmung	82
C 4.5.	Wiedererreichen des Eiinnentempertur Ausgangsniveaus	82
C 5.	Zusammenfassung der Ergebnisse	85

Inhaltsverzeichnis

D	<u>Diskussion</u>	
D 1.	Diskussion der Ausgangswerte und der Methoden	86
D 1.1.	Herzfrequenz	86
D 1.2.	Eiinnentemperatur	89
D 2.	Herzfrequenz und Eiinnentemperatur während der Abkühlung	92
D 2.1.	Herzfrequenz während der Abkühlung	92
D 2.2.	Eiinnentemperatur während der Abkühlung	93
D 3.	Korrelation zwischen Herzfrequenz und Eiinnentemperatur	97
D 4.	Vergleich von Eiern mit toten bzw. lebenden Eiern	98
E	<u>Zusammenfassung</u>	100
	<u>Summary</u>	101
F	<u>Quellennachweis</u>	103
G	<u>Anhang</u>	114

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AW	Ausgangswert
BT	Bebrütungstag
EIT	Eiinnentemperatur [°C]
EKG	Elektrokardiogramm
HF	Herzfrequenz [min ⁻¹]
KT	Körpertemperatur [°C]
M	Median
max	Maximum
min	Minimum
n	Anzahl der Beobachtungen
r	Pearson-Korrelationskoeffizient
s	Standardabweichung
SW	Stoffwechsel
t	tot (innerhalb von Gruppenbezeichnungen)
Tab.	Tabelle
TR	Temperaturregulation
UT	Umgebungstemperatur [°C]
Vk	Variationskoeffizient
WP	Wärmeproduktion
\bar{x}	Mittelwert

A Literatur

A 1. Einleitung und Zielstellung

Das bebrütete Vogelei liegt auf der Grenze zwischen Tierversuch, in-vitro-Prüfung und Gewebekultur. Es stellt somit ein ausgezeichnetes experimentelles Modell dar. Im Rahmen der Tiersatzversuche gewinnt das embryonierte Hühnerei immer mehr an Bedeutung. Insofern ist eine exakte Kenntnis der Entwicklung und Reifung physiologischer Prozesse des Hühnerembryos (*Gallus gallus f. domestica*) von herausragender Bedeutung. Viele Probleme bedürfen noch der Klärung. So auch die Frage, in welchem Alter sich physiologische Voraussetzungen für eine pränatale Herausbildung der Endothermie entwickeln. Die Problematik, ab wann ein Vogel endotherme Reaktionen zeigt, wird seit langem in der Literatur diskutiert. Nach der gegenwärtig vertretenen Lehrmeinung sind Vogelembryonen ektotherm; sie reagieren bei Senkung der Umgebungstemperatur (UT) mit einem Abfall der Wärmeproduktion (WP) und sind nicht in der Lage, ihre Körpertemperatur (KT) zu regulieren. Diese Anschauung geht auf die klassischen Untersuchungen von Freeman (1964) zurück, in denen nachgewiesen wurde, daß die Kühlung von Hühnerembryonen (Absenkung der UT von 38,0°C auf 20,0°C) zu einem Abfall der Sauerstoffaufnahme auch nach dem *internal pipping* (Durchstoßen der inneren Eimembran) führt. Im Gegensatz dazu sollen aber bereits wenige Minuten nach dem Schlupf bei Hühnerküken (Freeman, 1967) sowie bei Küken anderer Geflügelarten (Modrey & Nichelmann, 1992; Dietz & van Kampen, 1994) endotherme Reaktionsformen auftreten. Es gibt Hinweise auf eine beginnende thermoregulatorische WP in der späten Embryogenese precocialer Vogelarten (Freeman, 1967; Girard, 1973; Aulin & Moen, 1975; Tazawa & Nakagawa, 1985; Tazawa & Rahn, 1986; Tazawa et al., 1988b; Whittow & Tazawa, 1991; Ono et al., 1994), die mit Hilfe von Stoffwechsel- (SW-) parametern gewonnen wurden. Der exakte Zeitpunkt des Beginns der Regulation ist jedoch unbekannt (Freemann, 1964).

In der Ontogenese ist die Entstehung der Endothermie u.a. an die adäquate Entwicklung des Herz-Kreislauf-Systems, der Atmung und des Energie-stoffwechsels gebunden (Dunker 1991). So ist es wissenswert, wann und in welchem Umfang sich kardiovaskuläre, respiratorische und metabolische Voraussetzungen für die Genese der Endothermie während der Embryonalentwicklung herausbilden.

Hühnerembryonen reagieren auf Belastungen unterschiedlichster Art mit einer Erhöhung der Herzfrequenz (HF) und gesteigerter Catecholaminausschüttung (Koide & Tuan, 1989; Tönhardt & Valentin, 1993). Die Reaktion des Herzens gibt somit Auskunft über die Entwicklung der Organismus-Umwelt-Beziehung des Embryos (Tönhardt & Valentin, 1993). Die HF ist als empfindlich reagierender Gradmesser für Einflüsse aus der Umgebung und als leicht bestimmbare, vegetativ regulierte Größe ideal für die Beurteilung auftretender Belastungen geeignet.

Anliegen der eigenen Arbeit war es, als Beitrag zum Projekt „Endothermieentwicklung beim Vogelembryo“ den **Einfluß einer kurzzeitigen Hypothermie auf die HF und die EIT von Hühnerembryonen unterschiedlichen Alters** zu untersuchen.

A 2. Herz

A 2.1. Anatomische Grundlagen

Das Herz ist das erste Organ, das seine Funktion während der Embryonalentwicklung des Vogels aufnimmt (Romanoff, 1960).

Bereits am 2. Bebrütungstag (BT) beginnt das stecknadelkopfgroße Herz des Hühnerembryos zu schlagen (Bogue, 1932; Künzel, 1962; Freeman & Vince, 1974). Nach nur 45 bis 50 Bebrütungsstunden sind die Kontraktionen so stark, daß das Blut zu zirkulieren beginnt (Patten & Kramer, 1933) und sich das Kreislauf-System entwickelt (Freeman & Vince, 1974). Zu Beginn des 3. BT

entsteht das Interatrialseptum (Freeman & Vince, 1974). Am 4. BT verdicken sich die Wände des Herzens und entwickeln drei Ausbuchtungen, die die ersten primitiven Herzklappen darstellen (Brown, 1988). Während des enormen Wachstums des extraembryonalen Gefäßsystems am 4. und 5. BT kann am Herz selbst ein weitestgehender Stillstand in der Funktionsentwicklung beobachtet werden (Rickenbacher, 1975). Durch die Weiterentwicklung des Embryos wird das Herz am 6. BT nach innen verlagert. Der Herzwulst ist am 7. BT noch deutlich zu erkennen, erst am 8. BT ist er verschwunden (Künzel, 1962; Schwarze & Schröder, 1979).

Die morphologischen Veränderungen am Herzen können auch in der Entwicklung des EKG's beobachtet werden. Seidl et al. (1981) konnten ab Ende des 2. BT erste Anzeichen eines EKG's aufzeichnen. Zu diesem Zeitpunkt ähnelt das Herz einem einfachen, unsegmentierten, wellenförmiger Schlauch. In den nächsten 10 bis 15 Stunden erfährt das EKG deutliche Veränderungen. Die Wellen gewinnen an Steilheit und schließlich erscheint die P-Welle. Die anatomische Trennung von Atrium und Ventrikel in der 52. bis 64. Bebrütungsstunde wird in der Verlängerung von PQ deutlich. Die Verkürzung von PQ um die 120. Bebrütungsstunde kennzeichnet den Anfang der Phase, in der die Innervation des Herzens beginnt. Die fortschreitende Entwicklung des Herzens kann auch in der Amplitude beobachtet werden. Entspricht die Amplitude zum Zeitpunkt der 38. bis 45. Bebrütungsstunde noch 10 μV , weist sie nach 52 bis 64 Bebrütungsstunden bereits 40 μV und nach 132 Bebrütungsstunden (entspricht dem 6. BT) 100 μV auf (Rickenbacher, 1975; Seidl et al., 1981).

Die deutliche Gliederung des EKG's ist das Zeichen für die vollständige Segmentierung des Herzens (Seidl et al., 1981).

Durch die Peristaltik im embryonalen, schlauchförmigen Herzen herrscht im Blutraum ein Dauertonus. Aufgrund der Differenzierung des Erregungsleitungssystems, speziell im Atrioventrikularknoten, wird die Erregungsleitung so verzögert, daß zwischen dem 6. und 9. BT eine alternierende Vorhof-Ventrikel-Kontraktion einsetzt. Durch die Umstellung von der Peristaltik auf die alternierende Vorhof-Kammer-Kontraktion und dem damit verbundenen Vorteil, weniger Muskelkraft für die Beibehaltung der Strömungsrichtung aufwenden zu müssen, arbeitet das Herz nicht auf dem Gipfel der Leistungskurve. Das ist

physiologisch sinnvoll, denn so kann das Herz Reserven für Belastungssituationen aufbauen und gegebenenfalls mit einer Steigerung der Leistung reagieren.

Insgesamt steigt die Leistung des Herzens an. Hughes (1949) berechnete für den Hühnerembryo einen Anstieg des Herzminutenvolumens von 4,8 ml/min am 12. BT auf 6,3 ml/min am 17. BT. Nach Tazawa (1978) hat ein Hühnerembryo am 16. BT sogar ein Herzminutenvolumen von 21,3 ml/min. Auch der Blutfluß durch die Chorioallantoisarterie nimmt zu. So ermittelten van Golde et al. (1996) einen Anstieg des Durchflusses von 0,35 ml/min am 9. BT auf 3,13 ml/min am 17. BT. Die enorme Zunahme des Leistungsvermögens des Herzens korreliert positiv mit der Entwicklung des Herzgewichtes (Freeman & Vince, 1974; Clark & Hu, 1990).

Der systolische Blutdruck steigt ebenfalls während der gesamten Bebrütungszeit kontinuierlich an. Dabei gibt es zwei Unregelmäßigkeiten, verursacht durch das enorme Wachstum des extraembryonalen Gefäßsystems am 5. BT und durch die beginnende Rückbildung des extraembryonalen Kreislaufes ab dem 18. BT (Rickenbacher, 1975).

A 2.2. Innervation

Die Entwicklung des Herz-Kreislauf-Systems ist eng mit der Herausbildung des vegetativen Nervensystems verbunden. Zur Entstehung und Reifung der Strukturen, die für die Kontrolle und Regulation der Herzaktivität verantwortlich sind, gibt es in der Literatur zum Teil widersprüchliche Angaben.

Das Herz wird durch die beiden Anteile des Vegetativums, Sympathikus und Parasympathikus, innerviert (STURKI, 1986).

Die neuronalen Strukturen zur Regulation der Herztätigkeit bilden sich in der frühen Embryogenese heraus und reifen allmählich. Die sympathische Innervation des embryonalen Hühnerherzens entwickelt sich zwischen dem 3. und 5. BT sehr intensiv (Ignarro & Shideman, 1968). So konnten myocardiale Rezeptoren nachgewiesen werden, die auf sympathomimetische Amine reagieren. Girard (1973) stellte am 4. bis 5. BT nach intravasaler Injektion von Adrenalin und Noradrenalin chronotrope Sensivität fest. Mit Hilfe morphologischer Untersuchungen wies

Romanoff (1960) den Beginn der sympathischen Innervation des embryonalen Myocards ab dem 5. BT nach. Lelorier et al. (1975) bestätigten diese Untersuchungen, indem sie zeigen konnten, daß das embryonale Hühnerherz noch nicht am 4. BT, aber am 7. BT auf Sympathomimetika positiv inotrop und chronotrop reagiert. Nach Untersuchungen von LeGrande et al. (1966) beginnt die morphologische Innervation des Herzens durch den Vagus zwischen dem 5. und 6. BT.

Die unterschiedlichen Angaben zum Beginn der Innervation des Herzens beziehen sich auf morphologische bzw. histochemische Untersuchungen.

Zur Einschätzung des Reifegrades der Innervation des embryonalen Hühnerherzens ist aber weniger die Reaktion auf applizierte Pharmaka als vielmehr die funktionelle Reaktion bedeutend. Denn diese setzt voraus, daß nicht nur einzelne Teile des Systems (Nervenfasern, Transmitter, Rezeptoren) vorhanden, sondern auch ausgereift und funktionell aufeinander abgestimmt sind, so daß das Herz auf äußere Reize reagieren kann.

Pappano (1975) untersuchte die funktionelle Innervation des Herzens mit Hilfe elektrophysiologischer Methoden. Führt die elektrische Reizung der Herznerven bzw. die Wirkung elektrischer Wechselfelder auf die Schrittmacherregion zur Freisetzung von Transmittern an den Synapsen und zur Veränderung der Frequenz, so konnte von einer intakten Innervation des Herzens ausgegangen werden. Demnach ist die parasympathische Innervation des embryonalen Hühnerherzens ab dem 12. BT funktionstüchtig. Kirby & STEWART (1986) bestätigen, daß die parasympathische Innervation des Herzens schon am 7. BT entwickelt, jedoch erst ab dem 12. BT voll intakt ist. Rickenbacher & Müller (1979) wiesen histochemisch Ganglien des Parasympathikus am Herzen nach, die ihre volle Ausprägung zwischen dem 13. und 15. BT erreichen.

Während für das embryonale Hühnerherz ab dem 12. BT von einer funktionellen parasympathische Innervation ausgegangen werden kann (Pappano, 1975; Kirby & STEWART 1986), ist der Sympathikus in seiner Funktion als Kardioakzellerator erst ab dem 16. BT aktiv. Morphologisch können die sympathischen Fasern schon viel früher (10. BT) nachgewiesen werden. Auch die Sensivität des Herzens gegenüber adrenergen Substanzen ist schon früher ausgeprägt. Die Verzögerung der Funktion der sympathischen Innervation läßt sich u.a. durch eine zu geringe

Dichte adrenerger Nerven und durch die noch ungenügend ausdifferenzierten Axonendigungen erklären. Erst ab dem 16. BT werden adäquate Mengen Neurotransmitter produziert und freigesetzt (Kirby & STEWART, 1986).

Weitere funktionelle Untersuchungen im Zeitraum zwischen dem morphologischen Erscheinen und der Ausbildung der physiologischen Funktion sind erforderlich.

Die zeitliche Differenz in der Ausprägung zwischen parasympathischer und sympathischer Innervation ist nach Akester (1984) phylogenetisch begründet, da der Vagus in der Kontrolle der Herztätigkeit generell eine dominierende Rolle spielt. Vögel unterscheiden sich jedoch von den meisten Säugern dadurch, daß sowohl die Atria als auch die Ventrikuli von sympathischen und parasympathischen Fasern innerviert werden und beide Anteile des vegetativen Nervensystems gleichermaßen die Herztätigkeit beeinflussen (Sturkie, 1986).

A 2.3. Entwicklung der Herzfrequenz

Als leicht zu erfassende physiologische Größe ist die vegetativ beeinflussbare HF seit je her ein interessanter Parameter zur Beschreibung von Reaktionslagen.

Die Angaben zu HF-Ruhewerten unterscheiden sich zum Teil erheblich (Tab. 1). Sie schwanken je nach Alter, Rasse, Versuchsbedingungen, Meß- und Auswertungsmethoden. Selbst unter gleichen Bedingungen kann die HF zwischen den Individuen, aber auch intraindividuell zum Teil erheblich differieren (Francis, 1962; Freeman & Vince, 1974). Francis (1962) konnte keine Geschlechtsunterschiede nachweisen, hielt aber genetische Ursachen für die Differenzen zwischen den angegebenen HF für wahrscheinlich.

Tab. 1: HF-Angaben unterschiedlicher Autoren für Hühnerembryonen des 17. BT

HF [min ⁻¹]	Autoren
212	Romanow & Sochen (1929)
273	Soliman & Huston (1972)
216	Girard (1973)
270	Tazawa & Nakagawa (1985)
280	Tazawa et al. (1997)

Es gibt zahlreiche Untersuchungen zur Entwicklung der HF (Romanow & Sochen, 1929; Francis, 1962; Cain ET AL, 1967; Girard, 1973; Freeman & Vince, 1974; Laughlin et al. 1976; Seidl et al. 1981; Ono et al., 1994; Pirow & Nichelmann, 1994; Dörner et al., 1995; Tazawa et al., 1997 u. a.).

Das Modell der HF-Entwicklung nach Cain et al. (1967) zeigt nach einer anfänglich niedrigeren HF einen stetigen Anstieg bis zum 10. BT, danach eine Stagnation und schließlich einen Abfall der HF. Der gleiche Trend wird von Tazawa et al. (1997) beschrieben. Während der Entwicklung des Herzens von der Tubulus- zur Vier-Kammer-Form steigt die HF von 150 min⁻¹ am 3. BT auf 240 min⁻¹ am 7. BT kontinuierlich an. Nach Ausreifung der Herzstrukturen verändert sich die HF nur noch geringfügig, bis um den 16. bis 18. BT das Maximum erreicht wird. Für precociale Vögel ist ein HF-Abfall vor und ein erneuter HF-Anstieg nach dem *internal pipping* charakteristisch.

In der 2. Bebrütungshälfte setzt eine vorübergehende Bradykardie ein. Diese ist auf den sinkenden pO₂ (Hypoxie) und den steigenden pCO₂ (Hypercapnie) infolge des steigenden SW zurückzuführen. Trotz großer inter- und intra-individueller Schwankungen konnte nach Berechnung der Trendfunktion festgestellt werden, daß die HF vom 17. zum 18. BT um 10 Schläge / 24 h sinkt (Dörner et al., 1995). Die Auswirkungen der Bradykardie werden durch die gestiegene Herzmasse und das erhöhte Schlagvolumen in dieser Phase aufgefangen (Freeman & Vince, 1974).

Zum Ende der Inkubation fällt eine erhöhte Variabilität der HF auf (Tazawa et al., 1997). Während die HF bei *prepipped* Embryonen in erster Linie von der Temperatur abhängt, wird sie nach dem *external pipping* (Aufbrechen der Kalkschale) auch durch andere Faktoren beeinflusst. So wird nach Etablierung der Lungenatmung eine respiratorische Sinusarrhythmie erkennbar (Pirow & Nichelmann, 1994). Während Ono et al. (1994) einen signifikanten Anstieg der HF während *external pipping* Aktivität registriert, konnten Tazawa et al. (1997) keine Relation zwischen den Arrhythmien und der Embryonenaktivität nachweisen. Die kurz vor dem Schlupf nochmals einsetzende Tachykardie und Arrhythmie wird durch den Schrittmacher und vegetative Einflüsse verursacht. Eine genauere Beschreibung der HF-Entwicklung im letzten Drittel der Inkubation gaben Laughlin et al. (1976).

Unterschiede können auch durch die Art der Auswertung und Berechnung entstehen. Es ist möglich, nach der peak-to-peak-Erfassung die Herzperiodendauer zu ermitteln und daraus die HF zu berechnen. Eine andere Variante ist die Auszählung der R-Zacken in einem bestimmten Zeitabschnitt und die daraus resultierende Berechnung der HF. In jedem Fall können momentane Unregelmäßigkeiten, wie z.B. die Senkung der HF während der Inspiration, Differenzen in den Wertangaben verursachen.

A 2.4. Methoden zur Erfassung der Herzfrequenz

Um physiologische Werte des leicht beeinflussbaren Parameters HF zu gewinnen, ist es wichtig, den Embryo in seiner physiologischen Umgebung zu belassen. Die Ableitung der HF vom freipräparierten Embryo ist für die Gewinnung physiologischer Werte ungeeignet.

Es gibt verschiedene Methoden, die HF abzuleiten. Die in Tab. 2 angegebene Einteilung in nichtinvasive, semiinvasive und invasive Methoden wurde in Anlehnung an Haque et al. (1994) vorgenommen.

Tab. 2: Methoden zur HF-Erfassung

Methode	Abkürzung	Einteilung
Akustokardiographie	AKG	nichtinvasiv
Ballistokardiographie	BKG	nichtinvasiv
Elektrokardiographie	EKG	semiinvasiv
Impedanzkardiographie	IKG	semiinvasiv
Pulsoximetrie	POM	semiinvasiv
Blutdruckmessung	BD	invasiv

Das Ballistokardiogramm und das Akustokardiogramm erfassen geringste Bewegungen bzw. Druckschwankungen, die durch die Herzkontraktionen verursacht werden. Sie beeinflussen den Embryo und damit die HF nicht. Beide Varianten setzt man in der zweiten Hälfte der Inkubation und für längerfristige Untersuchungen ein.

Für die Erfassung der HF mittels des Elektrokardiogramms werden die mit der Herzkontraktion auftretenden elektrischen Erregungen, die sich vom Herzen über den Körper und die extraembryonalen Flüssigkeiten ausbreiten, an der Oberfläche des Eies als Potenzialdifferenz abgeleitet. Ältere Methoden (Bogue, 1932; LAZARINI et al., 1956; Cain et al., 1967; Girard, 1973), die Nadelelektroden durch die Kalkschale in das Eiinnere zu stechen, sind als invasiv einzuordnen. Unter Anwendung modernerer Methoden (Ono ET AL., 1994; Pirow, 1995; Dörner et al., 1995) wird die Kalkschale nur wenige Quadratmillimeter eröffnet, ohne die äußere Schalenmembran zu verletzen. Bei der Ableitung der Signale von den freipräparierten äußeren Schalenmembranen bleibt der Embryo weitestgehend unbeeinflusst, so daß diese Variante als semiinvasiv zu bezeichnen ist. Diese Methode der HF-Erfassung ist besonders für Langzeituntersuchungen geeignet.

Bei der Impedanzkardiographie werden die durch die Herzkontraktion und den damit verbundenen Blutaustrom verursachten Impedanzänderungen

aufgezeichnet. Diese semiinvasive Methode nutzt man vor allem bei Untersuchungen in der frühen Entwicklungsphase.

Ono et al. (1994) konnten zwischen nichtinvasiv und semiinvasiv ermittelten Werten keine signifikanten Unterschiede in der HF feststellen.

Eine weitere semiinvasive Methode ist die Pulsoximetrie (Lewin et al., 1997). Durch den unterschiedlichen Blutfluß während der Systole bzw. Diastole variiert die Blutmenge und damit der Sauerstoffgehalt, so daß aus der Sauerstoffsättigungskurve die Pulsfrequenz bzw. HF ermittelt werden kann. Diese Methode wird vorwiegend in der zweiten Inkubationshälfte angewendet.

Die invasive Blutdruckmessung über einen in die Allantoisarterie implantierten Katheter kommt hauptsächlich bei der Erfassung der momentanen HF bei älteren Embryonen zum Einsatz.

A 3. Temperatur

Die chemischen und biochemischen Prozesse sind temperaturabhängig. Nur bei Einhaltung eines speziellen Temperaturbereiches können physiologische Funktionen wie Verdauung, SW, Herz- Kreislauf- Systems, Enzymaktivität u. v. m. optimal ablaufen.

Homoiothermie ist die Fähigkeit von Organismen, das Temperaturniveau konstant zu halten. Sie zeichnet sich durch einen hohen Grund-SW (Tachymetabolismus) aus, mit dessen Hilfe autonome Temperaturregulations- (TR-) Mechanismen die KT auch bei größeren Schwankungen der UT in engen Grenzen halten können. Demgegenüber kann bei der *Poikilothermie* die KT in Abhängigkeit von der UT großen Schwankungen unterliegen, weil die Lebewesen, wie Fische, Amphibien und Reptilien, über keine effektiven autonomen TR-Mechanismen verfügen.

Die *Endothermie* wird als ein Modell der TR definiert, das sich durch eine hohe und kontrollierte WP auszeichnet. Bei der *Ektothermie* hingegen wird die KT hauptsächlich durch den (verhaltenskontrollierten) Wärmeaustausch mit der Umwelt reguliert (Glossary of terms for thermal Physiology, 1987).

A 3.1. Körpertemperatur

Die Vögel zählen zu den endothermen Lebewesen. Sie haben eine KT von über 40 °C. Tab. 3 zeigt ausgewählte Beispiele für Wirtschaftsgeflügel.

Diese hohe KT bietet einerseits den Vorteil schneller biochemischer Prozesse, auf der anderen Seite ist die Differenz zu Temperaturen, bei denen Enzyme und andere biologisch wichtige Strukturen denaturieren und ihre Funktion verändern oder gar einstellen, äußerst gering. So ist es verständlich, daß Vögel einen Temperaturabfall besser vertragen als eine Temperaturerhöhung.

Tab. 3: Bereich der normalen KT (Scheunert & Trautmann, 1987)

Vögel	KT - Bereich
Hühner	40,5 °C - 42,0 °C
Puten	40,0 °C - 41,5 °C
Tauben	41,0 °C - 43,0 °C
Enten	41,0 °C - 43,0 °C
Gänse	40,0 °C - 41,0 °C

A 3.2. Umgebungstemperatur

Für die Zellproliferation während der Embryogenese ist eine spezifische Temperatur erforderlich. Die Säugerembryonen im Uterus werden durch die Mutter vor vielen exogenen Einflüssen geschützt und genießen eine nahezu gleichbleibende UT durch die TR des Muttertieres. Der Vogelembryo hingegen entwickelt sich außerhalb des Mutterleibes und ist somit maßgeblich von der UT abhängig. Er ist auf die Energiezufuhr von außen in Form von Wärme und Sauerstoff angewiesen.

Deshalb besitzt die Inkubationstemperatur einen großen Einfluß auf die Entwicklung des Vogelembryos. Neben der unmittelbaren Wirkung auf

verschiedene Körperfunktionen wie den SW (Zhang & Whittow, 1992; Paulik, 1993), den Kreislauf (Tazawa & Mochizuki, 1978; Tazawa & Nakagawa, 1985; Tazawa & Rahn, 1986) oder die Lungenatmung (Dawes, 1981) können auch langfristige Effekte wie die Veränderung der pränatalen Entwicklungsgeschwindigkeit (Tazawa, 1973), eine unterschiedliche Determinierung von Regelsystemen (Nichelmann et al., 1994) oder die Beeinflussung von Wachstumsprozessen (Henderson & Brody, 1927; Henderson, 1930; Zhang & Whittow, 1992) und postnatalen Verhaltensweisen (Blanck, 1992) beobachtet werden.

Für die Inkubation von Hühnereiern sind Temperaturen von 34,5 °C - 39,5 °C notwendig (Romanoff, 1960). Optimal ist eine Bebrütungstemperatur von 37,5 °C (Brown, 1988).

Es ist zu beachten, daß ein Großteil der Untersuchungen an künstlich bebrüteten Eiern erfolgte. In der Natur werden die Eier vom federarmen und gut durchbluteten Brutfleck des Brutvogels aus punktuell erwärmt. Somit herrscht im Ei ein Temperaturgefälle von der Stelle am Brutfleck über den Mittelpunkt bis zu der Stelle, die dem Brutfleck gegenüber liegt. Diese Methode ist sehr effektiv. Selbst bei unterschiedlichster UT, ob am Polarkreis oder in der Wüste, wird ein enger Temperaturbereich für die Bebrütung aufrechterhalten. Die TR erfolgt über die Durchblutung des Brutflecks. Im Gegensatz dazu wird das Ei bei der künstlichen Bebrütung von allen Seiten gleichmäßig gewärmt. Diese Tatsache ist vor allem bei der Diskussion der Wärmeverteilung innerhalb des Eies zu beachten, die sich zwischen natürlicher und künstlicher Brut unterscheidet (Turner, 1990).

A 3.3. Eiinnentemperatur

Für die Problematik der Ontogenese der Endothermie sind die Embryonentemperatur bzw. die Temperatur im Eiinneren von besonderem Interesse.

Frühere Untersuchungen zur Entwicklung der Endothermie bei Vögeln (Freeman, 1964; Tazawa et al., 1988 B; Nair & Dawes, 1988) beschäftigten sich in erster

Linie mit Parametern wie SW-Leistungen oder Frequenz respiratorischer Bewegungen. Anhand dieser Parameter können indirekt Schlüsse auf eine endotherme Reaktionslage gezogen werden. Ob diese thermoregulatorischen Aktivitäten im Sinne einer Homiothermie effektiv und ausreichend sind, kann letztlich nur durch eine direkte Temperaturmessung beurteilt werden.

Neuere Untersuchungen konzentrieren sich deshalb auf die Eiinnentemperatur (EIT) oder im günstigsten Fall auf die Temperatur des Embryos.

In der Literatur gibt es kaum Angaben zur KT von Vogelembryonen. Jüngste Untersuchungen von Holland et al. (1997) und Burmeister et al. (1997) zeigen die Möglichkeit der Temperaturmessung im Colon des Embryos zwischen dem *internal pipping* und dem *external pipping* auf.

Andere Autoren haben die Temperatur im Eiinneren gemessen und als Referenzwerte angegeben (Girard, 1973; Tazawa & Nakagawa, 1985; Sotherland et al., 1987; Tazawa & Rahn, 1986; Turner, 1990; Ono et al., 1994; Kalweit & Burmeister, 1995).

Beim Vergleich unterschiedlicher Temperatureinflüsse ist es unerlässlich, neben dem Alter des Embryos und den Bebrütungsbedingungen den Ort der Messung zu berücksichtigen. Nach Sotherland et al. (1987) gibt es zwischen den einzelnen Abschnitten des Eies geringgradige Differenzen in der Temperatur. Infolgedessen sind für weitere Erkenntnisse bezüglich des Temperatureinflusses präzise Angaben unverzichtbar.

Sotherland et al. (1987) untersuchten die Temperatur an drei verschiedenen Punkten des Eies: auf der Kalkschalenoberfläche, zwischen der Kalkschale und der äußeren Schalenmembran sowie am Embryo im Eiinneren. Dabei wurde deutlich, daß die Grenzschicht, eine wenige Millimeter dünne Luftschicht rund um das Ei, die größte Barriere für den Wärmetransport darstellt. Während die Temperaturdifferenz zwischen der Umgebung und der Eioberfläche 1,2 °C betrug, unterschieden sich die Temperaturen an der Eioberfläche bzw. an der äußeren Schalenmembran von der Temperatur am Embryo nur um 0,3 °C bzw. 0,2 °C.

Kalweit & Burmeister (1995) kamen zu dem Schluß, daß die EIT bei konstanter UT ein hinlänglich genaues Maß für die Embryonentemperatur ist. Bei veränderter UT ist die thermale Pufferfunktion der extraembryonalen Flüssigkeiten zu berücksichtigen.

In der ersten Hälfte der Inkubation wird die EIT durch die UT bestimmt. Sie liegt in den ersten Bebrütungstagen bis zu 0,7 °C unter der Inkubationstemperatur. Am 12. BT sind die extraembryonalen Strukturen soweit entwickelt, daß die Chorionallantoismembran den Embryo gänzlich umschließt und als Isolator wirkt. Dies ist ein Wendepunkt in der Entwicklung der EIT. Durch den SW des Embryos und die damit verbundene WP steigt die EIT nun über die Werte der UT an. Dieser Trend verstärkt sich mit zunehmender Bebrütungsdauer. Kurz vor dem Schlupf kann die Differenz zwischen EIT und UT bis zu 1,9 °C betragen (Tazawa & Nakagawa, 1985).

A 3.4. Wärmeproduktion

Die metabolische WP dient dem Prinzip der Wärmebildung und -konservierung. Nach Danforth & Burger (1984) kann die metabolische WP in drei Komponenten gegliedert werden: die essentielle, die obligatorische und die regulative WP. In der ersten Komponente, der essentiellen WP, entsteht die Wärme bei Prozessen, die für das Leben unentbehrlich sind. Diese Komponente ist sowohl bei poikilothermen als auch bei homoiothermen Arten vertreten. Die anschließende Komponente der obligatorischen WP umfaßt jene Wärme, die homoiotherme Tiere durch den Ruhe-SW im thermoneutralen Bereich ohne zentralnervöse Kontrolle produzieren. Schließlich wird in der Komponente der regulativen WP jene zusätzliche Wärme produziert, die dem Erhalt der KT bei niedriger UT dient. In der Regel wird bei Vögeln die obligatorische WP durch Schilddrüsenhormone, die regulative WP durch das Nervensystem in Zusammenspiel mit den Schilddrüsenhormonen kontrolliert (Danforth & Burger, 1984; McNabb & OLSON, 1996).

Für die Thermogenese spielen SW-aktive Hormone eine Schlüsselrolle.

Die Schilddrüsenhormone Thyroxin (T₄) und Trijodthyronin (T₃) sind die Hauptkontrolleure des SW homoiothermer Vertebraten. Ihnen kommt auch bei der Entwicklung der TR eine Schlüsselrolle zu (McNabb & OLSON, 1996).

Zur Regulierung der Schilddrüsenfunktion werden im Hypothalamus und im Hypophysenvorderlappen Informationen aus der Umgebung und über den

internen physiologischen Status des Körpers verarbeitet. Die Interaktion der Hypothalamus-Hypophyse-Schilddrüse-Achse mit dem Nervensystem koordiniert die Thermogenese. Für die Ontogenese der TR ist demnach die Ausreifung dieser Strukturen von herausragender Bedeutung.

Bei Hühnerembryonen konnten Thyroidhormone bereits nach den ersten Bebrütungstagen in der Schilddrüse und ab dem 6,5. BT im Plasma nachgewiesen werden (McNabb & Olseon, 1996). Die funktionelle Kapazität der Schilddrüse erhöht sich in der zweiten Hälfte der Embryonalentwicklung beträchtlich (Freeman, 1964). Im perinatalen Zeitraum ist nochmals ein abrupter Anstieg der peripheren Konzentration der Schilddrüsenhormone zu verzeichnen (McNabb & Olseon, 1996).

Adrenalin und Glucagon wirken während der Embryogenese als physiologische Regulatoren der Leberglykogenolyse (Onogabe;1993). In institutseigenen Untersuchungen (Tönhardt et al., 1997) konnte das Vorhandensein von Adrenalin und Cortisol bei Hühnerembryonen ab dem 18. BT nachgewiesen werden.

Das Wachstumshormon GH beeinflusst indirekt die Thermogenese. Wie Glucagon ist auch das GH für eine Substratmobilisierung im Rahmen der endogenen WP verantwortlich. Das GH stimuliert zusätzlich die Erhöhung der T_3 -Plasmakonzentration. Schließlich verändert ein wachsender Embryo sein Volumen-Oberflächen-Verhältnis im Sinne der Wärmekonservierung positiv.

Ältere Embryonen haben somit ein umfangreicheres Potential SW-aktiver Hormone zur Verfügung als jüngere. Die mit wachsender SW-leistung verbundene WP verursacht die mit dem Alter des Embryonen steigende EIT und könnte neben der essentiellen und obligatorischen WP eine regulative WP ermöglichen.

A 3.5. Temperaturregulation

Die TR ist ein komplexes Zusammenspiel unterschiedlichster Mechanismen und Faktoren, durch das unter physiologischen Bedingungen ein Abweichen der KT vom Normbereich verhindert wird. Das Ziel aller durch Änderung der UT

provozierten, der TR dienenden Prozesse ist letztlich die Regulation bzw. das Konstanthalten (Homoiothermie) der KT (Kalweit & Burmeister, 1995), die eine spezifische Temperatur zur optimalen Funktion physiologischer Prozesse ist.

Es wird die autonome TR von der Verhaltens-TR unterschieden. Mit autonomer TR wird jede unwillkürliche Regulation der KT mit Hilfe von Thermoeffektoren beschrieben, die auf Kälte oder Wärme mit unterschiedlichem Grad der WP oder Wärmeverlust reagieren. Die Verhaltens-TR umfaßt koordinierte Bewegungen eines Lebewesens, eine thermale Umwelt zu erlangen, die bevorzugte Verhältnisse für Wärmeaustausch zwischen Organismus und Umwelt aufweist.

Fische regulieren ihre KT allein über das Verhalten, die phylogenetisch älteste und sehr effektive Methode. Amphibien zeigen im Rahmen der TR bereits kutane Gefäßreaktionen, Reptilien zusätzlich Veränderungen in der Atemfrequenz. Vögel und Säuger haben ein präzises TR-System entwickelt.

In Abb. 1 wird die TR schematisch dargestellt, ohne auf ein Zusammenspiel mit anderen funktionellen Regelkreisen (Blutdruck, Energiebilanz, Hormonsekretion), die teilweise die gleichen Effektoren nutzen, einzugehen. Das Schema umfaßt die vier Einheiten, die für einen Regelkreis charakteristisch sind: die Rezeptoren, den Regler, die Effektoren und das zu regulierende System.

Im Laufe der Evolution zentrierten sich die thermosensitiven Strukturen. Die Existenz primärer Thermorezeptoren im Hypothalamus wird sowohl für Säuger als auch für Vögel kontrovers diskutiert (Kelso et al., 1982; Inomoto et al., 1983). Bei Vögeln führt die Kühlung des Hypothalamus nicht zur Steigerung der WP. Vielmehr sind die Kälterezeptoren der Haut bzw. die abdominalen Wärmerezeptoren für die TR bedeutend (Rautenberg & Necker, 1975).

Im Hypothalamus treffen alle afferenten Informationen von Thermorezeptorpopulationen der Haut, dem Körperkern und dem Rückenmark zusammen. Die präoptische Region des vorderen Hypothalamus ist bei Vögeln und Säugern das Zentrum der autonomen TR. Das thermoregulatorische Verhalten wird über den lateralen Hypothalamus gesteuert (Hissa, 1988). Die Verhaltens- und die autonome TR sind unabhängig voneinander und ergänzen sich (Hardy, 1973).

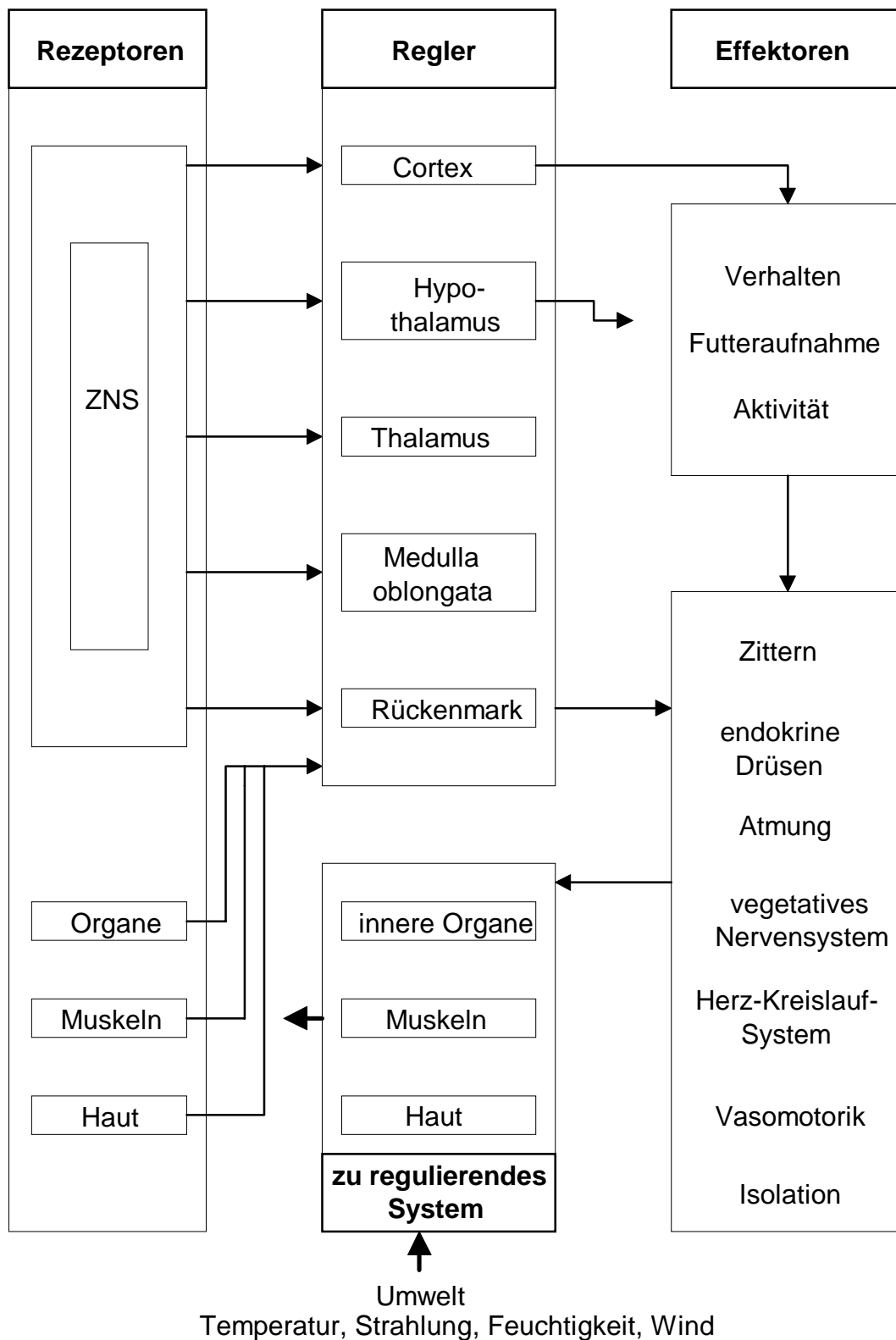


Abb. 1: Schema der zentralen Kontrolle der TR (nach Satinoff, 1978).

Beim Zittern, der phylogenetisch ältesten Methode der autonomen TR, wird durch aktive Muskelkontraktionen, Bewegung und Arbeit ausgeschlossen, Wärme freigesetzt, die durch die Spaltung von ATP in ADP und P entsteht (Hissa, 1988).

Es ist strittig, ob Vögel zur zitterfreien Thermogenese fähig sind. Die langläufig vertretene Meinung spricht Vögeln diese Fähigkeit ab, da sie kein braunes Fettgewebe besitzen. Andererseits ist bekannt, daß Vögel, die in der Arktis leben, einen höheren Ruhe-SW als warmadaptierten Arten aufweisen (Weathers, 1979) und dieser mit einer niedrigeren kritischen Temperatur im Winter korreliert (Whittow, 1976). Auli & Grav (1979) wiesen eine erhöhte Zytochromoxidaseaktivität kälteadaptierter Vögel nach. Saarela et al. (1980) beobachtete bei Tauben einen saisonalen Wechsel im Ruhe-SW ohne Veränderungen in der Elektromyographie registrieren zu können.

Generell reagieren Vögel wie Säuger auf thermalen Streß mit einer Erhöhung der Catecholaminausschüttung. Bedeutend für die WP ist auch die Aktivierung der an den Synthesen beteiligten Enzyme durch die Corticosteroide. Die Glandula suprarenalis ist somit neben der Hypophyse, dem Pankreas und der Thyreoidea ein wichtiges sekretorisches Organ im Rahmen der TR.

Die für die Entwicklung und Reifung des Embryos benötigte Energie wird bei der natürlichen Brut durch die Elterntiere oder künstlich durch einen Inkubator zugeführt. Insofern scheint die Entwicklung der TR bereits im frühen Stadium des Embryos wenig sinnvoll. Doch betrachtet man den Schlüpfling, so ist die Fähigkeit zur Aufrechterhaltung der KT bei unterschiedlicher UT für die Nestflüchter durchaus notwendig. Der Jungvogel precocialer Rassen kann, wenn auch in eingeschränktem Maße, direkt nach dem Schlupf endotherm reagieren (Freeman 1967; Bernstein, 1973; Modrey & Nichelmann, 1992; Dietz & van Kampen, 1994).

Im Verlauf der Embryogenese müssen sich Regulationssysteme soweit entwickeln, daß sie fähig sind, den Organismus vom geschützten pränatalen Leben auf die sowohl völlig anderen als auch wechselnden Umweltbedingungen postnatal einzustellen. Deshalb ist der Vogelembryo gezwungen, frühzeitig eigene Regelsysteme zu entwickeln, um auf Stressoren, z. B. wechselnde UT, reagieren zu können.

Diese Mechanismen werden schrittweise entwickelt und sind an die Reifung und Feinabstimmung der beteiligten anatomischen, nervalen und hormonellen Systeme gebunden.

Im Rahmen der Entwicklung des TR-Systems sind beim Vogel drei Prozesse von besondere Bedeutung: 1. die Ontogenese der Endothermie, 2. die epigenetische Determinierung des TR-Systems sowie 3. die postnatalen thermoregulatorischen Lernprozesse. Voraussetzungen für die Ontogenese der Endothermie beim Vogelembryo sind eine ausreichende Sauerstoffdiffusion durch die Eischale, eine genügende Sauerstofftransportkapazität des Blutes, ein adäquates zelluläres Enzymspektrum für die WP sowie entwickelte nervale TR-mechanismen (Nichelmann et al., 1994).

Whittow und Tazawa (1991) legten in einem Review dar, daß es Hinweise für eine beginnende thermoregulatorische WP in den letzten Entwicklungsstadien bei precocialen Vogelarten gibt. Sie unterschieden vier Stadien in der Entwicklung der Endothermie. Im *Arrhenius-limitierten Stadium* korreliert die Sauerstoffaufnahme direkt mit der UT, eine Temperatursenkung führt zu einer Abnahme der WP. Bedingt durch den mit zunehmendem Alter ansteigenden Sauerstoffbedarf ist die Diffusionskapazität durch die Kalkschale und die innere Eimembran erschöpft. Es steigt die Sauerstoffaufnahme trotz erhöhten Bedarfs nicht weiter an, sondern es bildet sich die *Plateauphase* heraus (Paganeli & Rahn, 1984). Während dieser Plateauphase ist die Sauerstoffaufnahme limitiert, so daß sich keine Endothermie herausbilden kann (*oxygen-conductance-limited stage*). Nach dem *internal pipping* und *external pipping* erhöht sich die Sauerstoffaufnahme. Es schließt sich ein Stadium an, in dem die thermoregulatorische WP zwar vorhanden ist, aber durch den mangelhaften Reifezustand der Gewebe und des Endokrinums sehr eingeschränkt ist (*power-limited stage*). Eine vollentwickelte Endothermie (*full-blown homoiothermy*) ist meist erst postnatal vorhanden.

Die Effektivität der endothermen Reaktion entwickelt sich bei Jungvögeln in den ersten Lebenstagen und -wochen weiter (Bernstein, 1973; Burmeister et al., 1988).

Das Reaktionsvermögen des Embryos auf thermische Belastungen (z.B. thermoregulatorische Variation des SW, Änderung der peripheren Durchblutung und des

Herzminutenvolumens) kann als Indikator für die Herausbildung einer endothermen Reaktionslage genutzt werden (Kalweit & Burmeister, 1995).

Die Temperaturempfindlichkeit der HF nimmt mit fortschreitendem Alter der Embryonen ab (Romanoff & Sochen, 1929). Während der Kreislauf des Hühnerembryos am 3. BT streng von der UT abhängt (Poikilothermie), werden am 7. BT die HF kompensatorisch verlangsamt und der BD erhöht. Girard (1973) interpretierte dies bereits als Trend zur Homoiothermie. Tazawa & Nakagawa (1985) wiesen beim Hühnerembryo ein bei geringer Kältebelastung erhöhtes Herzminutenvolumen bereits drei bis vier Tage vor dem Schlupf nach.

Unterschiede zwischen *prä-* und *external pipped* Embryonen hinsichtlich der temperaturabhängigen HF sind auf die endothermale Kapazität im Rahmen der TR (Whittow & Tazawa, 1991) und auf weitere Einflußfaktoren wie Lungenatmung oder Schlupfaktivität zurückzuführen (Ono et al., 1994).

Endotherme Reaktionsformen konnten mit Hilfe von SW-parametern für Embryonen des Moorschneehuhnes kurz vor dem Schlupf (Aulin & Moen, 1975) und für Hühnerembryonen ab dem 19. BT (Freemann, 1964) nachgewiesen werden.

Zur Charakterisierung eines Belastungszustandes nach Einwirkung ausgewählter Stressoren (Hypothermie) können Catecholamine und Glucocorticoide als endokrinologische Parameter herangezogen werden. Die hypothalamo-hypophyse-adrenale Achse und die zentralnervalen sowie peripheren vegetativen Strukturen sind bei Hühnerembryonen ab dem 14. BT, sicher ab dem 16. BT bzw 18. BT weitestgehend funktionell ausgereift.

Dennoch ist ein Erkennen thermoregulatorischer Leistungen stark von den gewählten Versuchsbedingungen abhängig. Extreme Umstände können Reaktionen maskieren.

Bei der Überprüfung der Reaktionsfähigkeit auf Wärmebelastung muß das Alter der Embryonen berücksichtigt werden. Aufgrund des gesteigerten SW älterer Embryonen und dem dadurch schnelleren Erreichen der Letaltemperatur von 46 °C - 47 °C, bei der die Enzymfunktionen und die Membranpermeabilität stark gestört werden (Moreng & Shaffer, 1951), können jüngere Embryonen Wärme besser vertragen und länger überleben als ältere Embryonen (Ono et al., 1994).

Durch Änderung der Bruttemperatur in den letzten Bebrütungstagen kann die Temperaturresistenz von Moschusentenküken beeinflusst werden. Eine Senkung der Bruttemperatur (34,5 °C) induziert zumindest in den ersten Lebenstagen eine erhöhte Kälteresistenz, die ihren Ausdruck in einer gesenkten Präferenztemperatur, einer gesteigerten WP und einer erhöhten Kolontemperatur bei tiefer UT findet. Eine gesteigerte Bruttemperatur (38,5 °C) verringert die Kälte- und steigert die Hitzeresistenz (Nichelmann et al., 1990; Herrmann & Nichelmann, 1991). Puten steigern nach pränataler Hitzeerfahrung postnatal ihre Präferenztemperatur (Blanck, 1992), verändern aber nicht ihren Energieumsatz (Grieshaber et al., 1993).

Eine geringe Kolontemperatur in den ersten Lebenstagen bei Puten entspricht einer aktiv eingeregelter Temperatur aufgrund eines geringen thermoregulatorischen Sollwertes und ist nicht auf eine passive Auskühlung zurückzuführen. Dadurch ist der Temperaturgradient zur UT niedriger. Infolgedessen kann primär die Wärmeabgabe und sekundär die thermoregulatorische WP gesenkt werden (Burmeister et al., 1988).

Precociale Vögel kompensieren ihren unterschiedlichen Entwicklungsgrad der TR direkt nach dem Schlupf mit einer relativ großen Körperstatur und vollständigem Gefieder. Je kleiner der precociale Vogel ist, z.B. die Chinesische Wachtel (*Excalfactoria chinensis*) mit 3 g Körpergewicht zum Zeitpunkt des Schlupfes kleinster Vertreter dieser Gruppe, desto wichtiger ist der Grad der Fähigkeit der Homoiothermie (Bernstein, 1973).

A 4. Zusammenfassung der Literatur

Wenn auch die Lehrmeinung, precociale Vogelembryonen seien ektotherm, vorherrscht, ist aus dem Literaturstudium erkennbar, daß die embryonalen Strukturen, die an der TR beteiligt sind, sich kontinuierlich entwickeln und reifen.

Die HF und die EIT gehören zu den Gradmessern dieser Entwicklung.

Insofern ist es wichtig, den **Einfluß einer kurzzeitigen Hypothermie auf die HF und die EIT von Hühnerembryonen unterschiedlichen Alters** zu untersuchen.

B Material und Methoden

B 1. Versuchseier

Die Untersuchungen wurden an embryonierten Eiern des Haushuhnes (*Gallus gallus f. domestica*) durchgeführt, die sich durch eine für precociale Vogelarten relativ kurze Bebrütungsdauer (21 Tage) auszeichnen und bereits seit längerer Zeit routinemäßig für andere Untersuchungen genutzt werden.

Die SPF-VALO Hühnereier wurden unbebrütet von der Firma *Lohmann Tierzucht GmbH* aus Cuxhaven geliefert und im Institut für Veterinär - Physiologie bei einer Temperatur von $37,4 \pm 0,2$ °C und einer Luftfeuchtigkeit von 60 - 70 % inkubiert. Der genutzte Flächenbrüter *Bismark-Brüter V80* der Firma *BITEC GmbH Bismark* wies über eine digitale Anzeige die Bebrütungstemperatur mit einer Genauigkeit von $\pm 0,2$ °C und die Luftfeuchtigkeit mit einer Genauigkeit von ± 5 % aus. Die Luft im gut wärmeisolierten Brutabteil wurde mit einer Strömungsgeschwindigkeit von 1,0 bis 1,5 m/s von oben nach unten auf die Wasserwanne geführt und zwischen Innen- und isoliertem Außenmantel wieder nach oben geleitet. Die automatische Rollwendung mit Vierpunktauflage garantierte eine sichere Lagerung der Eier und eine gute Durchlüftung des Brutabteils. Die Kühlung des Brütters erfolgte über die Raumtemperatur.

Für vergleichende Betrachtungen wurden auch Eier mit getöteten Embryonen untersucht. Dazu wurden befruchtete Hühnereier wie oben beschrieben inkubiert. Zum Zeitpunkt, da die Untersuchungen an Eiern mit lebenden Embryonen begannen, wurden die Eier für die Vergleichsuntersuchungen in eine Tiefkühltruhe (-20 °C bis -30 °C) umgelagert. Eine solche Vorgehensweise garantierte ein schnelles und sicheres Absterben unter Beibehaltung der strukturellen Verhältnisse. Sie war vom ethischen Standpunkt aus vertretbar.

B 2. Versuchsvorbereitung

Um den Embryonen eine Adaptationszeit zu gewähren, wurden die embryonierten Eier 24 Stunden vor Versuchsbeginn an ein EKG-Gerät angeschlossen. So konnte zu Versuchsbeginn mit unbeeinflussten Ausgangswerten gerechnet werden. Um eventuelle Verletzungen des Embryos durch Eigenbewegungen weitestgehend ausschließen zu können, wurden die Thermomeßfühler erst am Versuchstag plaziert.

Der EKG-Anschluß wurde speziell vorbereitet. Nach dem Anzeichnen der Luftkammer und der großen Gefäße wurden mittels Dentalbohrer (*Typ 707* der Firma *Dentalfabrik Treffurt*) zwei kreisförmige Flächen aus der Kalkschale gefräst, ohne dabei die äußere Schalenmembran zu verletzen. Die beiden Areale mit jeweils ca. 8 mm Durchmesser lagen sich diagonal gegenüber: zum einen wenig unterhalb der Grenze zur Luftkammer, zum anderen in der Nähe des spitzen Pols (Abb. 2).

Auf die so vorbereiteten Bezirke wurden die Silber-Silberchlorid-Auflageelektroden aus der EKG-Praxis aufgelegt und mit Heftpflaster fixiert. Um den elektrischen Widerstand möglichst gering zu halten, wurde das Elektrodengel *signa creme* (Hauptinhaltsstoff Natriumchlorid) von der Firma *Parker* verwendet.

Die mit Meßfühlern versehenen Eier wurden auf einer handelsüblichen Eierpappe gelagert und in den Brüter verbracht. Die Elektrodenkabel sind durch die Lüftungsschlitze des Brüters zum Ableitkopf geführt worden, der an das EEG-Gerät *Bioscript BST 2100* der Firma *RFT* angeschlossen war.

Für die Plazierung der Thermomeßfühler ist jedes Ei einzeln aus dem Brüter entnommen worden. Während das Ei zur Orientierung über einer Kaltlichtquelle (*Highlight 3000* der Firma *Olympus*) durchleuchtet wurde, konnte zunächst die Lage des Embryos und der Gefäße bestimmt werden. Unter Beachtung dieser Verhältnisse wurde in der Region des spitzen Pols mit dem Dentalbohrer ein stecknadelkopfgroßes Stück aus der Kalkschale gefräst. Anschließend wurden mit einer Kanüle die Membranen eröffnet und der zuvor in 97%igem Alkohol desinfizierte, 1,5 mm starke Meßfühler ca. 2 cm tief in das Eiinnere eingeführt.

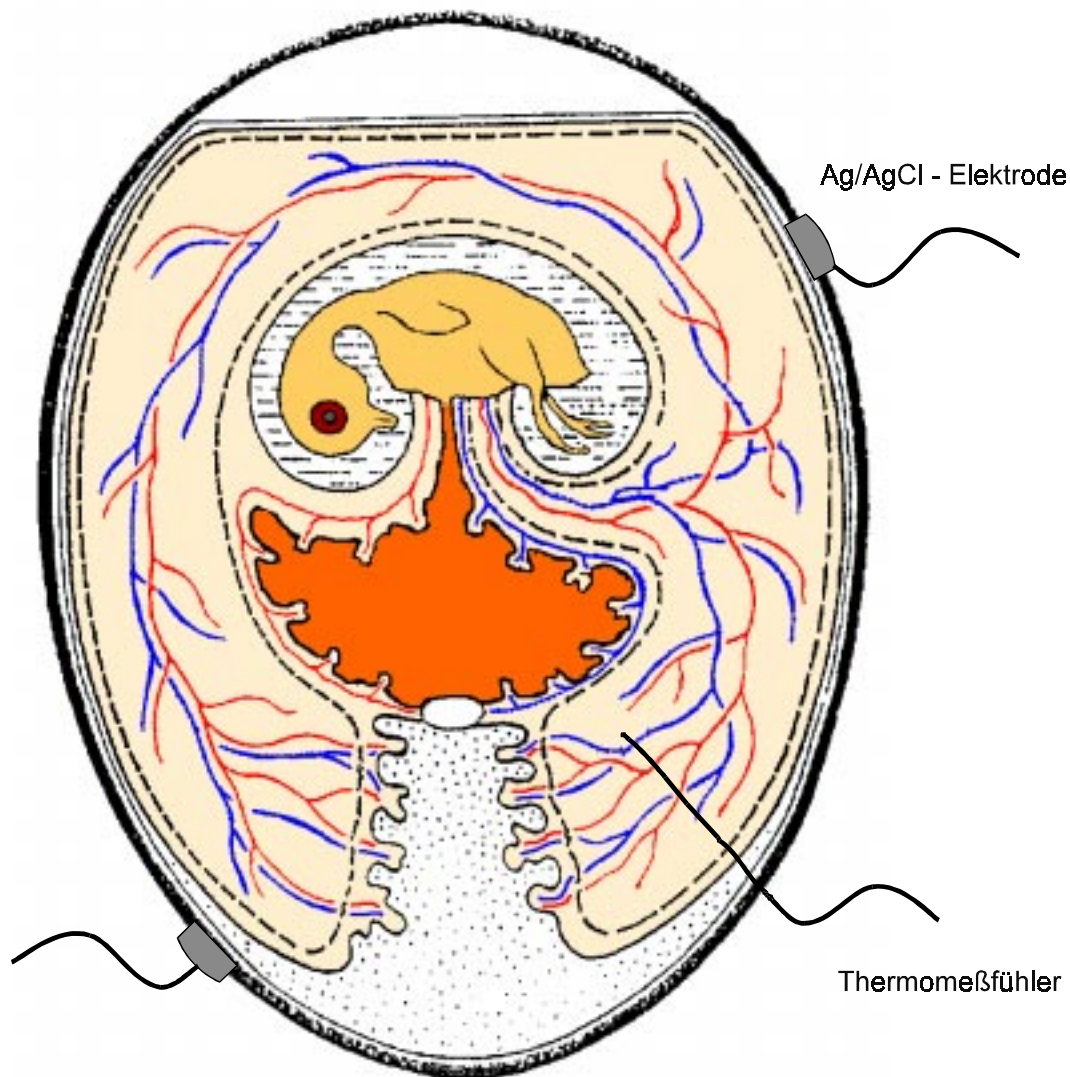


Abb. 2: Schematische Darstellung der Plazierung von EKG- und Thermomeßfühlern am embryonierten Hühnerei (modifiziert nach Kalweit & Burmeister, 1995).

Während dieses Vorgangs sind keine Gefäße verletzt worden. Der Meßfühler wurde so nah wie möglich am Embryo plaziert. Durch die beim Schieren entstehenden Schatten unterschiedlich lichtdichter Strukturen war erkennbar, ob der Meßfühler den Embryo berührte. Das entstandene Loch in den Membranen und der Kalkschale wurde mit Dentalwachs (*Orbis Dental GmbH, Offenbach*) luftdicht verschlossen und der Meßfühler mit Heftpflaster an der Kalkschale fixiert.

Die Anschlußkabel der Thermomeßfühler wurden wie die EKG-Meßfühler durch die Lüftungsöffnungen des Brüters nach außen geführt und zum Datalogger geleitet.

Die Methode der Meßfühlerplazierung ist so schonend durchführbar, daß geschlüpfte Küken normal entwickelt und vital waren (Kalweit UND Burmeister, 1995).

B 3. Kurzbeschreibung der Versuche

In Auswertung der Literatur über die vier Stadien in der Entwicklung der Endothermie (siehe S. 24) wurden Hühnerembryonen des 14., 17. und 20. Bebrütungstages (BT) untersucht.

Im allgemeinen dauern Manipulationen, denen Eier in Vorbereitung von Versuchen ausgesetzt werden, 5 bis 25 Minuten. Deshalb wurden die Zeitspannen 5, 10, 15, 20 und 25 Minuten als Abkühlintervalle gewählt.

Es waren somit drei Reihen (Alter der Embryonen) mit jeweils fünf Gruppen (Abkühlungsdauer) zu untersuchen (Tab. 4).

Tab. 4: Versuchsreihen und -gruppen mit Kurzbezeichnung

Altersstufe	Abkühlungsdauer [min]				
	05	10	15	20	25
14. BT	1405	1410	1415	1420	1425
17. BT	1705	1710	1715	1720	1725
20. BT	2005	2010	2015	2020	2025

Für vergleichende Betrachtungen des EIT-Verhaltens wurden zusätzlich Eier mit getöteten Embryonen (t) der drei Altersstufen für 20 Minuten (t_{1420} , t_{1720} und t_{2020}) abgekühlt.

Als exogener thermischer Reiz wurde die plötzliche Abkühlung bei einer Temperatur von 21,0 °C gewählt. Diese niedrige Umgebungstemperatur (UT) entspricht der üblichen Raumtemperatur in Laboratorien, der die Eier bei Manipulationen in Vorbereitung von Versuchen ausgesetzt werden.

Die an die Meßgeräte angeschlossenen Hühnereier wurden aus dem Brüter mit einer Inkubationstemperatur von 37,4 °C entnommen und in einen direkt daneben stehenden Brüter mit 21,0 °C verbracht. Dabei waren alle Eier auf einer handelsüblichen Eierpappe gelagert, so daß ein zügiger Transport (durchschnittlich 10 Sekunden) ohne größere Bewegung der Eier gesichert war. Die Rückführung der Eier in den Brutschrank mit 37,4 °C nach der jeweiligen Abkühlungsdauer erfolgte analog.

In Abb. 3 wird der zeitliche Ablauf der Untersuchungen schematisch dargestellt.

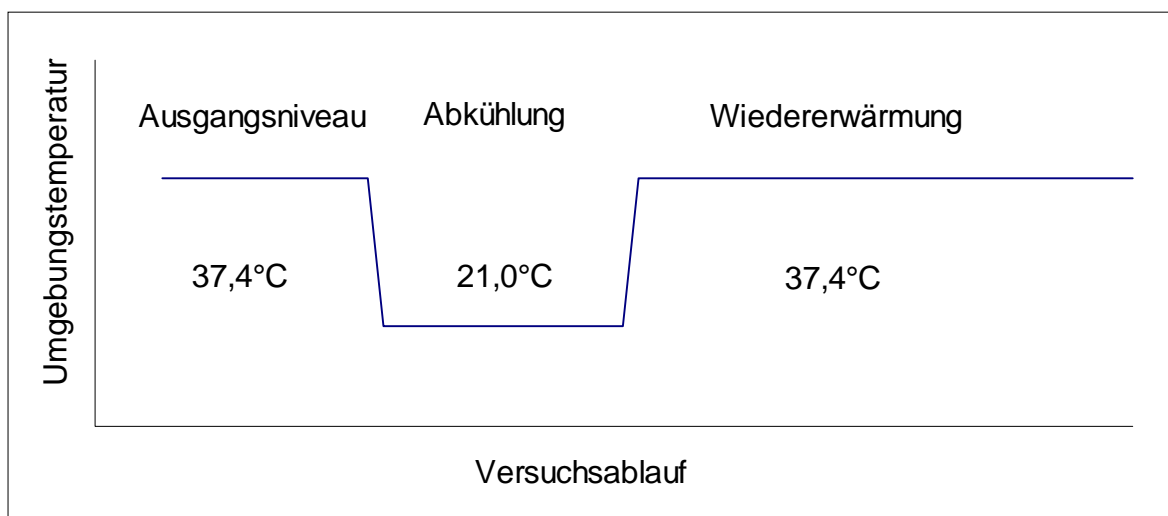


Abb. 3: Schema des Versuchsablaufes

Um das Reaktionsvermögen der Hühnerembryonen auf exogene thermische Reize beurteilen zu können, wurden die HF sowie die EIT, die sowohl durch die kühle UT als auch durch die Wärmeproduktion im Rahmen des Stoffwechsels beeinflusst wird, gewählt.

Die HF wurde mit Hilfe der von Dörner et al. (1995) im Institut für Veterinär-Physiologie der Freien Universität entwickelten, semiinvasiven Methode der EKG-Ableitung ermittelt. Zur Messung der EIT so nahe wie möglich am Embryo wurde eine eigene Methode erarbeitet (Kalweit & Burmeister, 1995).

Jedes Ei wurde nur einmal genutzt, um so eventuell auftretende Trainingseffekte auszuschließen zu können.

Die Durchführung der Versuche erfolgte immer zum gleichen Zeitpunkt. Zum einen konnte der Einfluß eines circadianen Rhythmus minimiert werden. Zum anderen konnte sichergestellt werden, daß die Hühnerembryonen in der jeweiligen Versuchsreihe zum Versuchszeitpunkt immer gleich alt waren.

Für die Protokollierung und Auswertung der experimentell gewonnenen Daten erhielt jedes Ei zur Identifizierung eine dreigliedrige Nummer. Im ersten Teil war die Zugehörigkeit zur Versuchsgruppe (BT und Abkühlungsdauer, Tab. 4) erkennbar. Das Datum des Versuchstages bildete das zweite Glied. Schließlich ist im dritten Teil die Numerierung der Eier des jeweiligen Versuchstages ersichtlich. Das Ei mit der Nummer „1410 - 2402 / 6“ beispielsweise war das sechste Ei am Versuchstag 24. Februar in der Gruppe „14. BT, 10 Minuten Abkühlung“.

B 4. Signalaufnahme und Meßwerterfassung

B 4.1. Signalaufnahme und Meßwerterfassung der Herzfrequenz

Die Signale der EKGs wurden mit einem 8-Kanal Elektroenzephalographen *BST 2100* aus dem *Meßgerätewerk Zwönitz* und dem dazugehörigen 2-Kanal Memoryscope *MS 2100* abgeleitet und registriert. Die in diesem Gerät möglichen Einstellungen hinsichtlich Hoch- und Tiefpaßfilter sowie des elektrischen Potentials konnten genutzt werden. Bei der Einstellung von 10 μV , 200 Hz und 0,001 s wurden saubere und auswertbare EKGs aufgezeichnet. Abb. 4 zeigt einen Ausschnitt aus den EKG-Aufzeichnungen von sechs Embryonen des 20. BT.

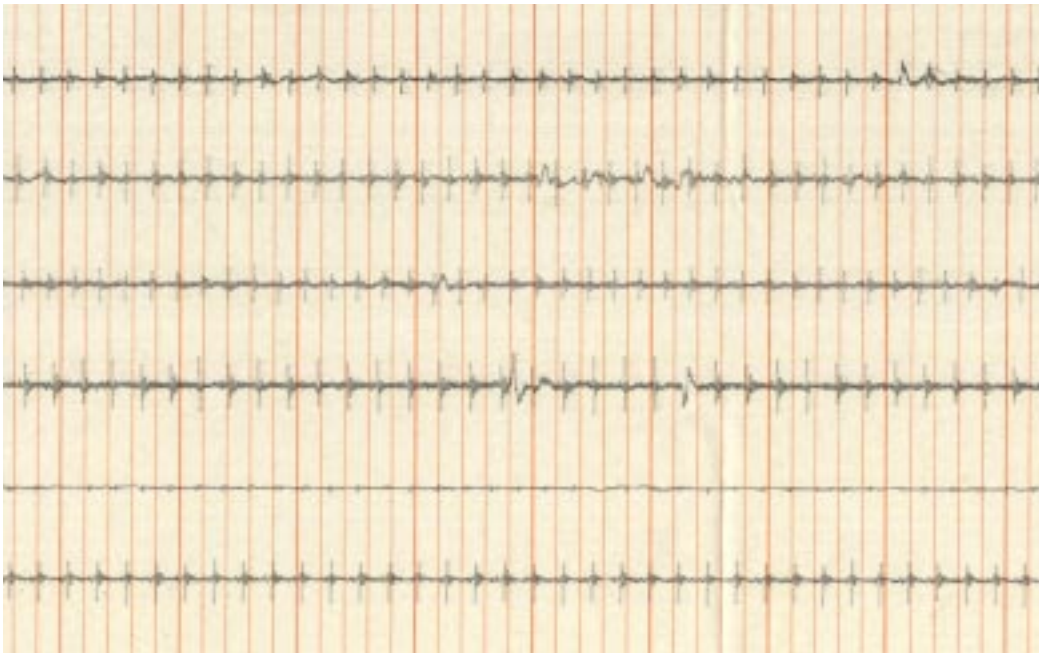


Abb. 4: Ausschnitt aus den originalen EKG-Aufzeichnungen von sechs Embryonen der Altersstufe 20. BT bei der Einstellung $10 \mu\text{V}$, 200 Hz und 0,001 s.

Wie bereits in dem Abschnitt B 2. beschrieben, wurden alle Elektroden schon am Versuchsvortag angebracht und die Qualität der Signale überprüft. Der Elektrodenwiderstand lag zwischen 1 und 2 k Ω .

Im Rahmen des Versuches wurde das EKG mindestens 15 Minuten vor dem Abkühlungsbeginn, über die Abkühlungsdauer hinweg und während der Wiedererwärmung (nach nur kurzzeitiger Abkühlung wenigstens 90 Minuten, nach 15minütiger oder längerer Abkühlung wenigstens 120 Minuten) aufgezeichnet.

Die Meßwerte wurden im 5-Minuten-Takt registriert. In den Versuchsabschnitten, in denen die größten Veränderungen der HF erwartet wurden, während der Abkühlung und während der ersten 45 Minuten der Wiedererwärmung, erfolgte eine Einengung der Aufzeichnungsintervalle auf 60 Sekunden.

Aus den aufgezeichneten EKG-Ausschnitten wurden zufällig ausgewählte 10-Sekunden-Fragmente herausgegriffen und die darin erkennbaren R- Zacken ausgezählt. Bei der Auswahl des EKG-Ausschnittes wurde lediglich darauf

geachtet, daß möglichst wenig Artefakte (Blöcke in der Impulsübertragung, 50 Hz-Einstreuungen aus dem Versorgungsnetz, Muskelpotentiale bei Bewegung des Embryos) auftreten. Im Übrigen war die Auswahl des EKG-Ausschnittes zufällig.

B 4.2. Signalaufnahme und Meßwerterfassung der Eiinnentemperatur

Als Thermomeßfühler wurden die *Miniaturheißleiter NTC Typ Siemens B57085 M103-K* der Firma *Siemens* genutzt. In dem gewählten Bereich von 30°C bis 40°C arbeiteten diese bei einer Reaktionsgeschwindigkeit von nur 2 Sekunden auf 0,1 °C bis 0,2 °C genau.

Ein die Spitze umfassender Glaskörper schützte den Meßfühler vor mechanischen Beschädigungen, speziell durch Bewegungen des Embryos.

Da die Kunststoffummantelung leicht zu reinigen war, konnte ein Infektionsrisiko des Embryos durch die Einführung des Meßfühlers in das Ei minimiert werden.

Aufgrund von Temperaturschwankungen änderten die Thermosensoren ihren elektrischen Widerstand. Die daraus resultierenden Spannungsänderungen wurden im Operationsverstärker potenziert, so daß ein angeschlossener *Data-Logger DK-log 101/3* der Firma *Driesen & Kern* diese Werte erfassen und verwerten konnte. Durch ein eingebautes Programm berechnete der *Data-Logger* aus den Spannungsänderungen die Temperatur und gab diese über eine Interface-Verbindung zur Weiterverarbeitung und Speicherung an den Rechner weiter. Der Versuchsablauf war am Monitor anhand eines Balkendiagramms und der absoluten Temperaturangaben zu verfolgen. Die Programmierung des *Data-Loggers*, wie Beginn, Dauer und Frequenz der Messungen, erfolgte über den Rechner.

Ein Schaltbild eines Kanals (Abb. 25) und das Blockschaltbild der Temperaturerfassung (Abb. 26) sind im Anhang ersichtlich.

Der Einfluß der Platzierung der Thermomeßfühler auf die zu erfassenden Größen HF und EIT war nach drei Stunden nicht mehr nachweisbar. In Voruntersuchungen konnte gezeigt werden, daß bei gleichbleibender Umgebungstemperatur nach dieser Zeitspanne sowohl die EIT als auch die HF konstant blieben (Kalweit & Burmeister, 1995). Zur Sicherung unbeeinflusster Ausgangs-

werte wurden vier Stunden Ruhe zwischen der Meßfühlerplazierung und dem Versuchsbeginn eingehalten.

Die EIT wurden, wie auch die HF, wenigstens 15 Minuten vor dem Abkühlungsbeginn, über die Abkühlungsdauer hinweg und während der Wiedererwärmung (nach nur kurzzeitiger Abkühlung wenigstens 90 Minuten, nach 15minütiger oder längerer Abkühlung wenigstens 120 Minuten) registriert. Die Meßwerterfassung erfolgte über den gesamten Zeitraum im 10-Sekunden-Takt.

B 5. Datenaufbereitung und statistische Analysen

B 5.1. Meßdatenvorverarbeitung

Die Rohdaten waren zunächst die über 10 Sekunden ausgezählten R - Zacken und die im Rechner gespeicherten binären Werte der EIT.

Die Anzahl der R-Zacken wurde mit sechs multipliziert und als momentaner HF-Wert registriert. In Voruntersuchungen konnte festgestellt werden, daß sich die Anzahl der R- Zacken in den Aufzeichnungen einer Minute und der berechneten HF nach o. g. Methode nicht wesentlich unterschieden. Differenzen von maximal 6 Schlägen pro Minute ließen die Art und Weise der HF-Ermittlung vertretbar erscheinen. Tab. 5 weist einige Beispiele dazu aus.

Diese Daten bildeten die Grundlage für alle nachfolgenden Analysen der HF.

Tab. 5: Vergleich der berechneten und der ausgezählten HF

Ei - Nr.	R- Zacken über 10 Sekunden ausgezählt	errechneter momentaner HF- Wert	R- Zacken über 60 Sekunden ausgezählt	Differenz zwischen errechneter und ausgezählter HF
1410-1703/2	40	240	235	5
1410-1703/5	41	246	240	6
1410-1703/7	41	246	246	0
1410-1703/2	39	236	231	5
1410-1703/7	41	246	245	1

Im Rahmen der Meßdatenvorverarbeitung erfolgte die Überführung der binären Rohdaten der EIT in analoge Zeichen. Anschließend wurden sie von Artefakten befreit. Aufgrund der gewählten Einstellung der Thermomeßfühler von 0 bis 5 V für den Bereich 30 °C bis 40 °C (Abschnitt B 4.2.) wurden Blöcke in der Datenübertragung zwischen den Meßfühlern und dem Computer mit 40 °C ausgewiesen. Deshalb mußten sämtliche 40 °C - Angaben als Block betrachtet und entfernt werden.

Weiterhin wurden die EIT - Werte geglättet. Da ein Schwanken der EIT um $\pm 0,2$ °C innerhalb 10 Sekunden unwahrscheinlich war, wurde ein Programm entwickelt, mit dem Schwankungen dieser Art ausgemerzt und als Fehlwerte registriert wurden. Die so „bereinigten“ Daten dienten als Basis für alle nachfolgenden Analysen der EIT.

Fehlende Werte in den Reihen der HF oder der EIT wurden derartig markiert, daß das Rechnerprogramm diese Werte interpolierte.

B 5.2. Statistische Analysen

In die Auswertung der HF und der EIT flossen nur Daten von Eiern ein, bei denen diese beiden Parameter gleichzeitig und über die gesamte Dauer erfaßt werden konnten. Für die vergleichenden Untersuchungen an Eiern mit getöteten Embryonen gab es keine Limitierung.

Tab. 6: Anzahl der untersuchten Eier je Versuchsreihen und -gruppen.

	14. BT	17. BT	20. BT	n
5 min	10	9	10	29
10 min	7	10	11	28
15 min	8	10	8	26
20 min	10	8	10	28
25 min	4	11	8	23
n	39	48	47	134
	t 14	t 17	t 20	
20 min	8	8	8	24

Insgesamt wurden 134 embryonierte Eier in den Stadien des 14., 17. und 20. BT sowie 24 Eier mit getöteten Embryonen der entsprechenden Altersstufen untersucht. Aus Tab. 6 ist die Verteilung innerhalb der untersuchten Reihen (Einteilung nach Altersstufen) und Gruppen (Einteilung nach Abkühlungsdauer) ersichtlich.

Der gesamte Versuchsablauf umfaßte fünf Phasen:

1. Ausgangsniveau
2. Abkühlung
3. Minimum nach der Abkühlung
4. Wiedererwärmung
5. Wiedererreichen des Ausgangsniveaus.

Die statistische Analyse der HF, der EIT, der Korrelation zwischen diesen Parametern und der Vergleich der EIT von Eiern mit lebenden und getöteten Embryonen folgte dieser Gliederung.

Die Ergebnisse wurden als Originalwerte oder als arithmetisches Mittel \bar{x} (Lagemaß) mit Standardabweichung s (Streuungsmaß) dargestellt. Zusätzlich wurden Variationskoeffizienten V_k , Minima **min** und Maxima **max** sowie die Anzahl der Beobachtungen n angegeben.

Für die HF und die EIT wurden die empirischen Verteilungsfunktionen untersucht. Eine symmetrische Verteilung wurde angenommen, wenn der Quotient aus dem arithmetischen Mittelwert und dem Median zwischen 0,9 und 1,1 lag (Immich, 1974). Aufgrund der empirischen Verteilungsfunktion und des Quotienten aus arithmetischem Mittelwert und Median konnte eine annähernde Normalverteilung unterstellt werden.

Der Zusammenhang zwischen HF und EIT wurde für einzelne Eier und für ganze Gruppen untersucht und mit dem Pearson-Koeffizienten r beschrieben.

Um den Einfluß der Altersstufe bzw. der Abkühlungsdauer auf die HF und die EIT in den verschiedenen Phasen des Versuchsablaufes zu ermitteln, wurde die einfaktorielle bzw. zweifaktorielle Varianzanalyse mit multiplen Anschlußtest nach Tukey angewendet.

Bei Durchführung einer linearen Regression ist neben der Regressionsgleichung das Bestimmtheitsmaß R^2 (das Quadrat des Pearson Korrelationskoeffizienten) angegeben worden.

Um den Verlauf der HF und der EIT trotz variierender Ausgangswerte vergleichen zu können, wurde mit Bezug auf Ausgangswerte auf prozentuale Angaben zurückgegriffen.

Für die Auswertung des in den Untersuchungen gewonnenen Datenmaterials erfolgte die Festlegung des lokalen Signifikanzniveau einheitlich auf 5 % ($p < 0,05$).

Beim Vergleich der Graphiken muß auf die unterschiedliche Skalierung der Achsen zwischen verschiedenen Abbildungen geachtet werden.

Die statistische Analyse erfolgte mit den Programmen:

- ◆ Statistical - Analysis - System 6.11 (SAS Institute Inc., Cary, USA) und
- ◆ Excel 5.0 (Microsoft®).

Für die graphischen Darstellungen wurden die Programme

- ◆ Excel 5.0 (Microsoft®) und
- ◆ Snap GrafX 1.0 (MicrografX®) genutzt.

C Ergebnisse

C 1. Auswertung der Herzfrequenz

Im folgenden Abschnitt wird das Verhalten der Herzfrequenz (HF) von Embryonen unterschiedlichen Alters in den verschiedenen Phasen des Versuchsablaufes untersucht.

C 1.1. Herzfrequenzausgangswerte

Für die Ermittlung der durchschnittlichen HF-Ausgangswerte der verschiedenen Altersstufen wurden alle einzelnen HF-Ausgangswerte der jeweiligen Untersuchungsreihen herangezogen. Die durchschnittliche HF betrug unter den gegebenen Bedingungen am 14. BT $249,6 \text{ min}^{-1}$, am 17. BT 254 min^{-1} und am 20. BT $240,9 \text{ min}^{-1}$ (Tab. 7).

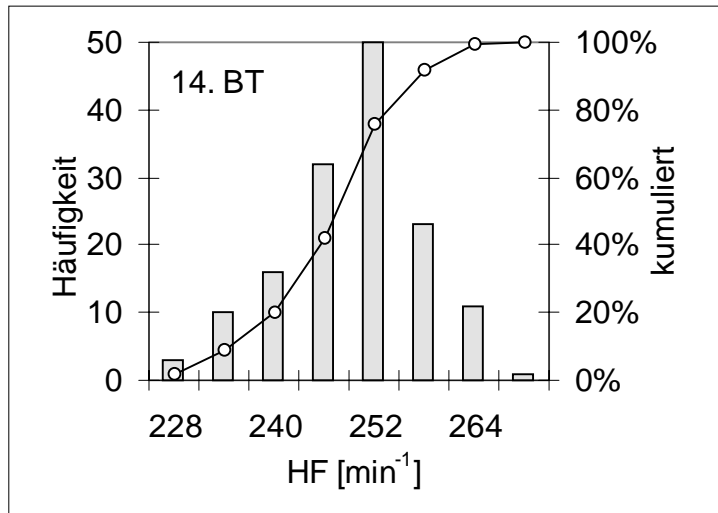
Tab. 7: HF-Ausgangswerte von Hühnerembryonen des 14., 17. und 20. BT

	14. BT	17. BT	20. BT
x ± s [min^{-1}]	249,6 ± 8,4	254 ± 9,1	240,9 ± 11,4
M [min^{-1}]	252	252	240
Vk	0,034	0,036	0,047
n	146	186	184

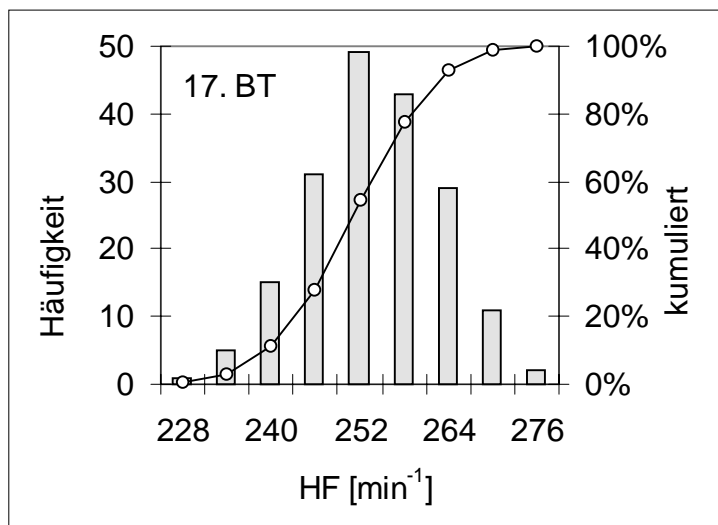
Die durchschnittlichen HF-Ausgangswerte der einzelnen Altersstufen unterschieden sich signifikant ($p = 0,0001$) voneinander. Der Anschlußtest nach Tukey wies Unterschiede zwischen dem 20. BT und 14. BT bzw. zwischen dem 20. BT und 17. BT, nicht aber zwischen dem 14. BT und 17. BT aus.

Ergebnisse

14. BT		
n= 146		
HF [min ⁻¹]	Häufigkeit	
	absolut	kumuliert
228	3	2,05 %
234	10	8,90 %
240	16	19,86 %
246	32	41,78 %
252	50	76,03 %
258	23	91,78 %
264	11	99,32 %
270	1	100,00 %



17. BT		
n= 186		
HF [min ⁻¹]	Häufigkeit	
	absolut	kumuliert
228	1	0,54 %
234	5	3,23 %
240	15	11,29 %
246	31	27,96 %
252	49	54,30 %
258	43	77,42 %
264	29	93,01 %
270	11	98,92 %
276	2	100,00 %



20. BT		
n= 184		
HF [min ⁻¹]	Häufigkeit	
	absolut	kumuliert
216	3	1,63 %
222	11	7,61 %
228	20	18,48 %
234	35	37,50 %
240	47	63,04 %
246	21	74,46 %
252	24	87,50 %
258	15	95,65 %
264	6	98,91 %
270	2	100,00 %

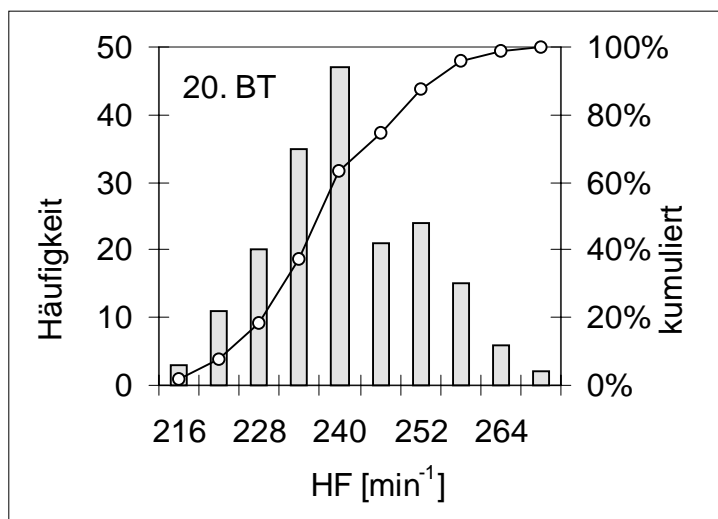


Abb. 5: Histogramme der HF-Ausgangswerte der Altersstufen 14. BT, 17. BT und 20. BT.

Es war auffällig, daß aufgrund der relativ großen Streuung innerhalb der Untersuchungsreihen die Differenzen in den einzelnen Altersstufen größer waren als die Unterschiede zwischen diesen. Teilweise waren sogar die individuellen HF-Schwankungen größer als die Differenzen zwischen den verschiedenen Altersstufen. Dies traf vor allem für Embryonen des 20. BT zu.

Markant war außerdem eine gestiegene Variabilität der HF am 20. BT gegenüber den anderen untersuchten Altersstufen bei gleichzeitig niedrigeren HF-Ausgangswerten.

In Abb. 5 wurden die Histogramme der HF-Ausgangswerte mit empirischer Verteilungsfunktion der drei Untersuchungsreihen dargestellt.

Aufgrund der empirischen Verteilungsfunktion und des Quotienten aus Mittelwert und Median konnte für die HF-Ausgangswerte der in die Untersuchung einbezogenen Embryonen eine Normalverteilung angenommen werden.

C 1.2. Herzfrequenz während der Abkühlung

Die HF fiel in allen drei Altersstufen während der Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) von ihrem Ausgangsniveau ab.

In Abb. 6 ist der durchschnittliche HF-Abfall der drei Untersuchungsreihen dargestellt. Während der untersuchten Abkühlungsdauer zeigte der HF-Abfall in jeder Versuchsreihe einen nahezu linearen Verlauf.

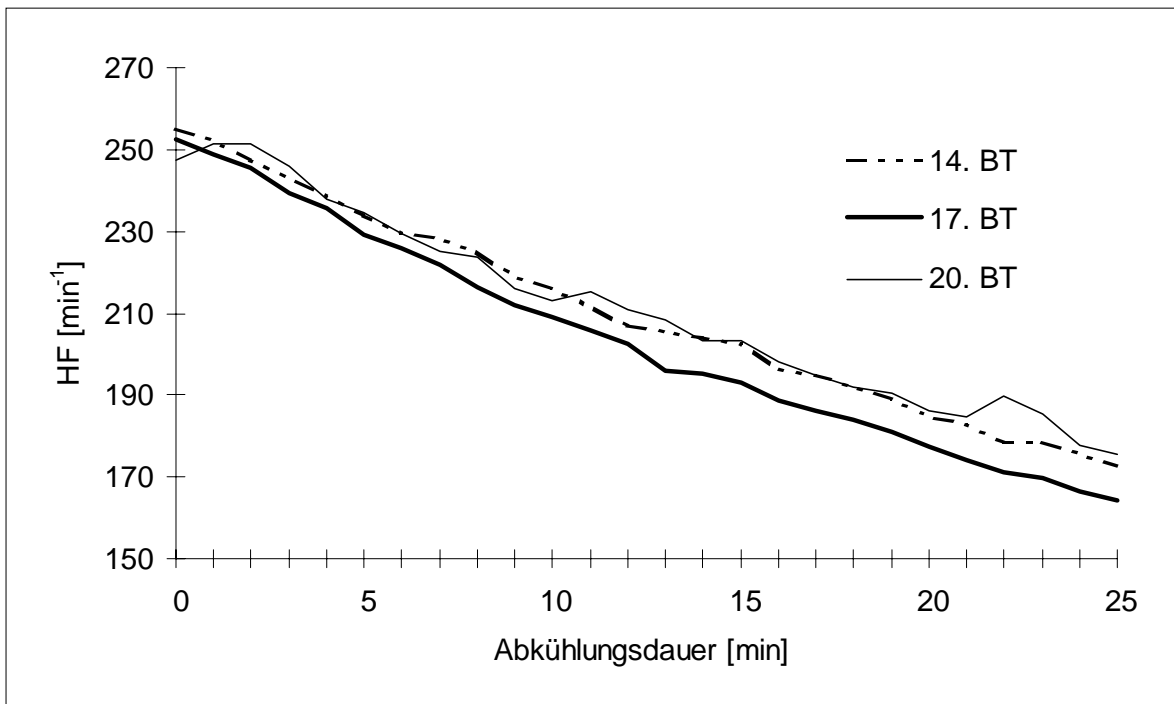


Abb. 6: Durchschnittlicher HF-Verlauf von Embryonen des 14. BT ($n=4$), 17. BT ($n=11$) und 20. BT ($n=8$) während 25minütiger Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C).

Aus den für jeden Embryo einzeln ermittelten Regressionen des HF-Verlaufs während der 25minütigen Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) wurden die Regressionsgleichungen für die drei Altersstufen berechnet. Sie lauten für den

14. BT	$y = -3,2903x + 254,53$	mit R^2 von 0,9716 bis 0,9831
17. BT	$y = -3,5465x + 251,37$	mit R^2 von 0,9572 bis 0,9823
20. BT	$y = -3,05x + 252,36$	mit R^2 von 0,7637 bis 0,9635

Zur Verdeutlichung der guten Trendübereinstimmung zwischen den einzelnen Embryonen werden in Abb. 7 Einzelbeispiele des HF-Verlaufs während der Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) gezeigt.

Ergebnisse

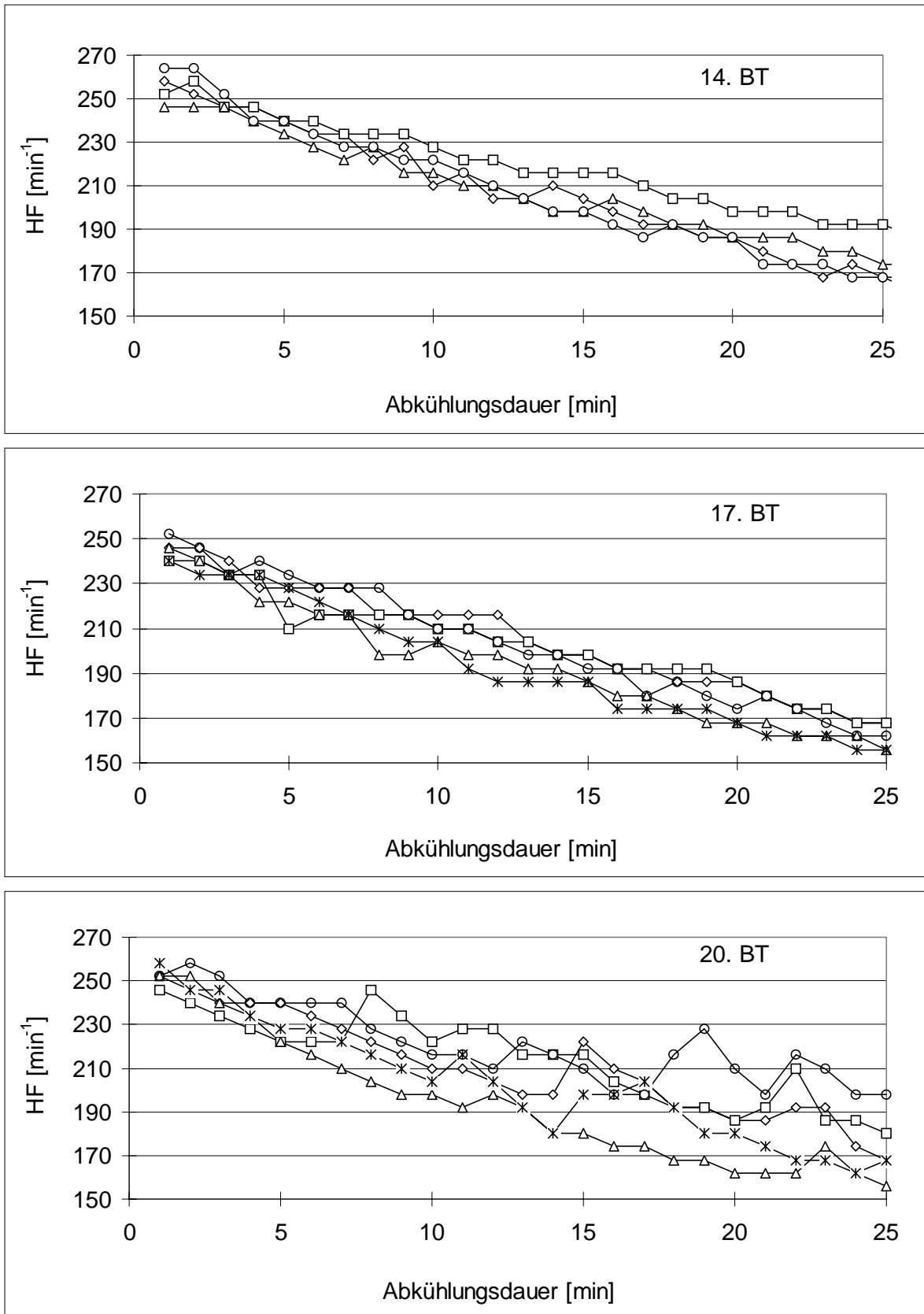


Abb. 7: HF- Verlauf während 25minütiger Abkühlung bei Raumtemperatur, zufällig ausgewählte Beispiele einzelner Embryonen des 14. BT ($n=4$), 17. BT ($n=5$) und 20. BT ($n=5$).

C 1.3. Herzfrequenz nach der Abkühlung

Im folgenden werden die minimalen Werte der HF nach der jeweiligen Abkühlungsdauer ausgewertet. Um den Abfall der HF zwischen den Altersstufen trotz unterschiedlicher Ausgangswerte vergleichen zu können, wurde auf prozentuale Angaben zurückgegriffen. Die individuellen Ausgangswerte wurden jeweils 100 % gesetzt (Tab. 8).

Die HF fiel in allen Altersstufen mit zunehmender Abkühlungsdauer weiter von ihrem Ausgangsniveau ab.

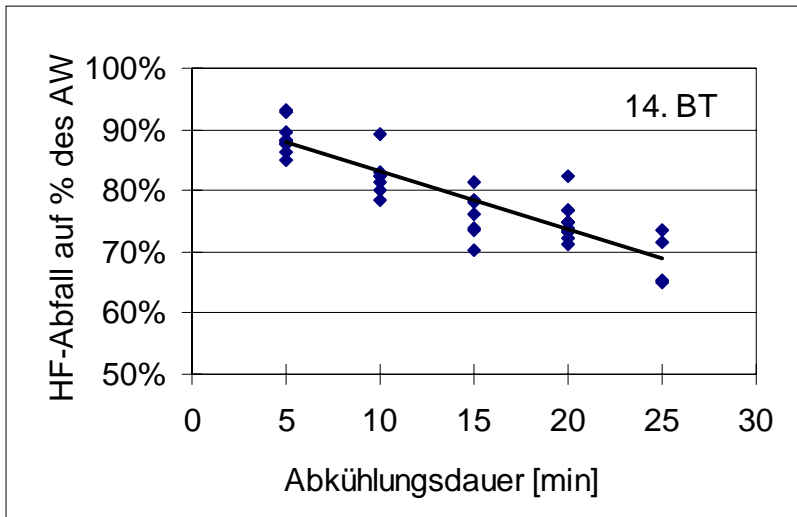
Tab. 8: Durchschnittlicher Abfall der HF auf Prozent des jeweiligen Ausgangsniveaus \bar{x} mit Standardabweichung s und Embryonenanzahl n .

Abkühlungsdauer [min]	14. BT		17. BT		20. BT	
	$\bar{x} \pm s$ [%]	n	$\bar{x} \pm s$ [%]	n	$\bar{x} \pm s$ [%]	n
5	88,6 ± 2,6	10	88,9 ± 2,2	9	89,7 ± 3,8	10
10	82,4 ± 3,4	7	83,2 ± 1,8	10	80,4 ± 4,6	11
15	76,3 ± 3,6	8	75,3 ± 4,3	10	79,4 ± 7,4	8
20	75,0 ± 3,1	10	66,5 ± 5,3	8	72,8 ± 3,8	10
25	68,9 ± 4,2	4	64,1 ± 5,0	11	70,6 ± 5,6	8

Mit Hilfe der zweifaktoriellen Varianzanalyse konnte ein signifikanter Einfluß sowohl des Alters ($p = 0,0001$) als auch der Abkühlungsdauer ($p = 0,0001$) auf die minimalen HF nach der Abkühlung nachgewiesen werden. Die Wechselwirkung beider Faktoren hatte ebenfalls einen signifikanten Einfluß ($p = 0,0024$).

Als multipler Anschlußtest zum Vergleich der einzelnen Faktoren wurde der Test nach Tukey durchgeführt. Zwischen den prozentualen Abfällen der HF der Altersstufen des 14. BT und 17. BT sowie zwischen denen des 17. BT und 20. BT konnten signifikante Unterschiede nachgewiesen werden. Die prozentualen Abfälle der HF des 14. BT und des 20. BT unterschieden sich nicht deutlich von-

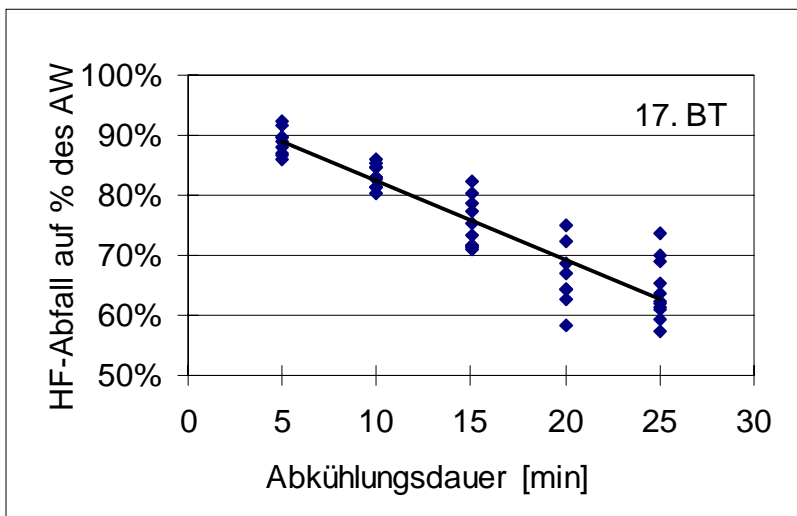
Ergebnisse



14. BT:

$$y = -0,0094x + 0,925$$

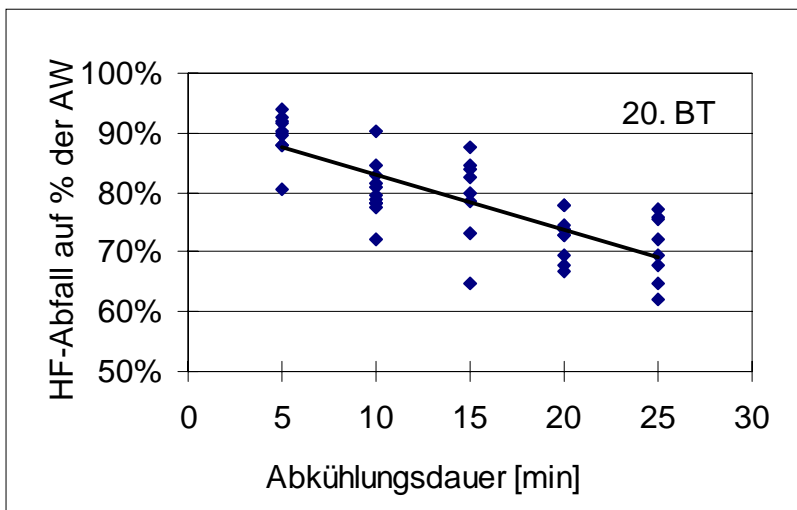
$$R^2 = 0,7878$$



17. BT:

$$y = -0,013x + 0,9539$$

$$R^2 = 0,8452$$



20. BT:

$$y = -0,0092x + 0,9224$$

$$R^2 = 0,6152$$

Abb. 8: Prozentualer Abfall der HF nach unterschiedlich langer Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) der einzelnen Embryonen des 14. BT, 17. BT und 20. BT.

einander. Hinsichtlich der Abkühlungsdauer, 5 bis 25 Minuten, unterschieden sich alle Gruppen signifikant in ihren prozentualen HF-Abfällen voneinander.

Die individuellen Unterschiede im prozentualen Abfall der HF nach der Abkühlung wurden in der Abb. 8 dargestellt.

C 1.4. Herzfrequenz während der Wiedererwärmung

Während der Wiedererwärmung unter Brutbedingungen nahm die HF in allen 15 untersuchten Gruppen wieder zu.

In Abb. 9 wird der durchschnittliche HF-Verlauf der drei Altersstufen gegenübergestellt. Die differenzierte Dichte der Meßpunkte der HF beruht auf der unterschiedlichen Erfassungsfrequenz. In den ersten 45 Minuten wurde die HF jede Minute registriert, danach nur noch alle 5 Minuten.

Der Anstieg der HF während der Wiedererwärmung zeigte einen logarithmischen Verlauf (Abb. 9).

Zunächst wurden die Regressionsgleichungen für den HF-Verlauf jedes einzelnen Embryos ermittelt. Daraus konnten die Regressionen für die jeweilige Gruppe berechnet werden:

$$14. \text{ BT: } y = 20,6305 \ln(x) + 150,683 \quad \text{mit } R^2 \text{ von } 0,9154 \text{ bis } 0,9565$$

$$17. \text{ BT: } y = 22,3182 \ln(x) + 154,775 \quad \text{mit } R^2 \text{ von } 0,8944 \text{ bis } 0,9549$$

$$20. \text{ BT: } y = 17,7460 \ln(x) + 161,344 \quad \text{mit } R^2 \text{ von } 0,6571 \text{ bis } 0,8631$$

nach jeweils 25 Minuten Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C).

Die HF der Embryonen des 17. BT stieg am schnellsten wieder an. Die Embryonen des 20. BT zeigten den geringsten Anstieg in der HF, allerdings auch vom höchsten Niveau aus. Diese Unterschiede waren aber nicht statistisch zu sichern.

Ergebnisse

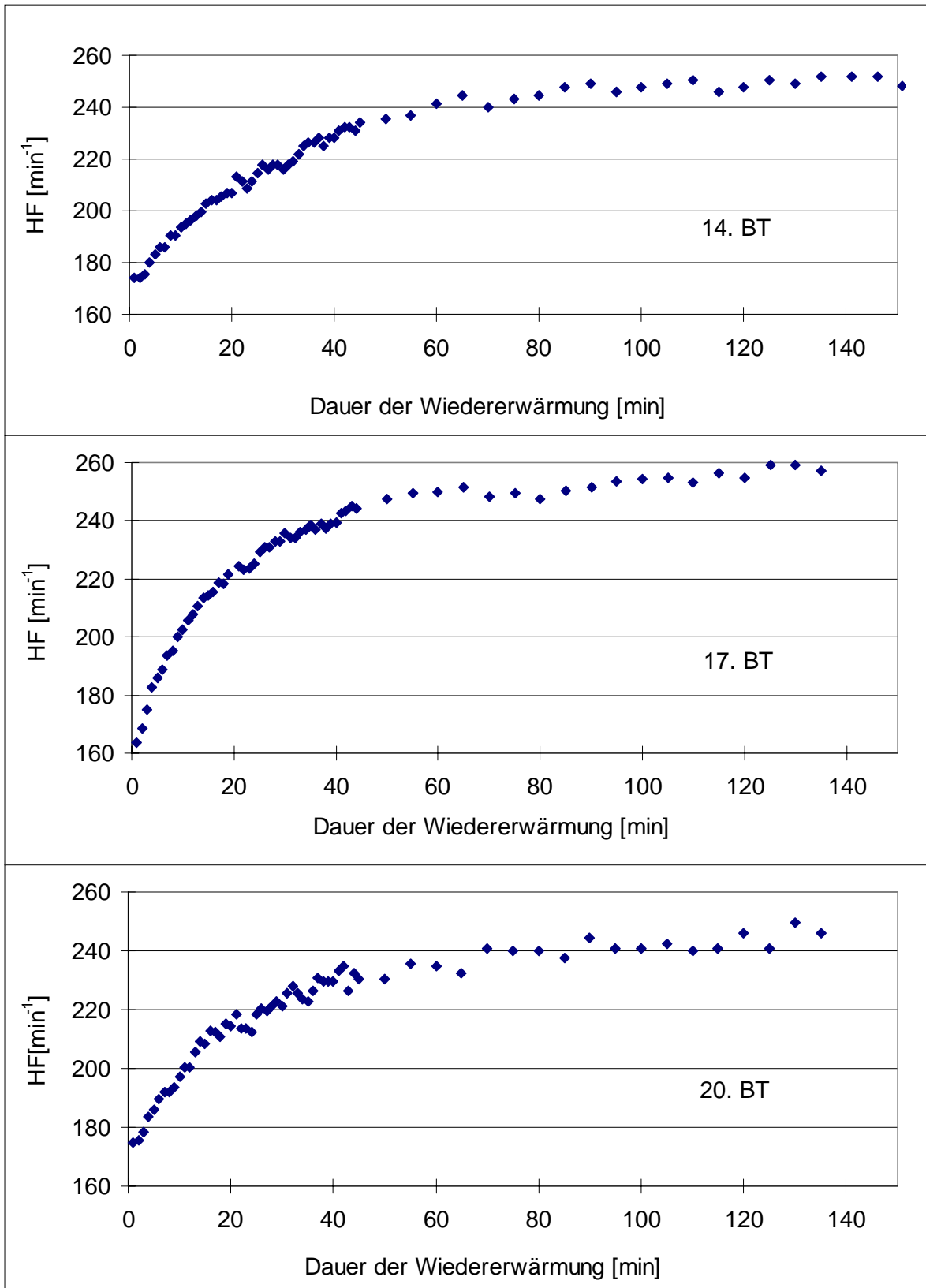


Abb. 9: Durchschnittlicher HF- Verlauf während der Wiedererwärmung nach vorangegangener 25minütiger Abkühlung (14. BT: $n = 4$, 17. BT: $n = 11$, 20. BT: $n = 8$).

C 1.5. Wiedererreichen des Herzfrequenz Ausgangsniveaus

Das Ausgangsniveau der HF galt als wiedererreicht, wenn die momentanen Werte sechsmal hintereinander mit einminütigem Abstand zwischen den Messungen bzw. viermal hintereinander mit fünfminütigem Abstand zwischen den Messungen im Bereich des durchschnittlichen Ausgangswertes ± 6 Schläge pro Minute lagen.

Diese Bedingungen wurden so festgelegt, weil:

- ◆ bis zu 45 Minuten die HF jede Minute und anschließend nur noch alle 5 Minuten erfaßt wurde;
- ◆ ein Konstanthalten der HF über 5 Minuten bzw. über 15 Minuten auf ein Erreichen eines stabilen Niveaus schließen ließ;
- ◆ aufgrund der Art und Weise der HF-Erfassung (Abschnitt B 4.1.) ein Schwanken von 6 Schlägen pro Minute unerheblich war;
- ◆ die Standardabweichung der HF-Ausgangswerte in der Regel sogar größer als 6 Schläge pro Minute war;
- ◆ Differenzen der HF in dieser Größenordnung auch unter Ruhebedingungen als physiologisch betrachtet werden können.

Die HF wurde während der Wiedererwärmung unter Brutbedingungen nach nur kurzzeitiger Abkühlung wenigstens 90 Minuten, nach 15minütiger und längerer Abkühlung wenigstens 120 Minuten registriert.

Nicht alle Eier erlangten ihr HF-Ausgangsniveau innerhalb der Aufzeichnungsdauer wieder. In Tab. 9 ist ersichtlich, wieviel Embryonen ihr HF-Ausgangsniveau innerhalb der Aufzeichnungsdauer wiedererreichten.

Tab. 9: Gegenüberstellung, wieviel der untersuchten Embryonen (n) ihr HF-Ausgangsniveau innerhalb der Aufzeichnungsdauer wiedererreichten (N).

Abkühl- dauer [min]	14. BT		17. BT		20. BT	
	n	N	n	N	n	N
5	10	9	9	9	10	7
10	7	6	10	8	11	9
15	8	5	10	10	8	7
20	10	10	8	5	10	9
25	4	4	11	9	8	8

Da die Mehrheit (86 %) der untersuchten Embryonen ihr HF-Ausgangsniveau innerhalb der Aufzeichnungsdauer wiedererreichte, ist davon auszugehen, daß die Dauer der Aufzeichnung während der Wiederrwärmung unter Brutbedingungen allgemein ausreichend war. Daß einige wenige Embryonen dennoch ihr HF-Ausgangsniveau nicht wiedererlangten, kann sowohl technische als auch physiologische Ursachen haben.

Die folgenden Betrachtungen stützen sich auf Werte von Embryonen, die ihr HF-Ausgangsniveau innerhalb der Aufzeichnungsdauer wiedererreichten.

Tab. 10 gibt die durchschnittlichen Zeitspannen bis zur Wiedererlangung des HF-Ausgangsniveau der einzelnen Versuchsgruppen an. In Einzelfällen gab es erhebliche Abweichungen von diesen Durchschnittswerten. Dennoch konnten signifikante Unterschiede ($p = 0,0001$) in der Dauer bis zum Wiedererreichen des HF-Ausgangsniveau in Abhängigkeit der vorangegangenen Abkühlungsdauer festgestellt werden. Ein Einfluß des Alters bzw. der Wechselwirkung der beiden Faktoren auf die Dauer bis zur Wiedererlangung des HF-Ausgangsniveaus konnte nicht nachgewiesen werden ($p = 0,7819$ bzw. $p = 0,4068$).

Tab. 10: Durchschnittliche Dauer \bar{x} mit Standardabweichung s der einzelnen Versuchsgruppen, bis das HF-Ausgangsniveau wiedererreicht wurde.

Abkühlungsdauer [min]	14. BT $\bar{x} \pm s$ [min]	17. BT $\bar{x} \pm s$ [min]	20. BT $\bar{x} \pm s$ [min]	Randsumme $\bar{x} \pm s$ [min]
5	33 ± 15	44 ± 15	27 ± 24	35 ± 19
10	41 ± 9	43 ± 16	46 ± 29	44 ± 20
15	52 ± 14	63 ± 29	73 ± 26	64 ± 26
20	65 ± 30	53 ± 23	68 ± 18	63 ± 24
25	89 ± 32	68 ± 24	69 ± 28	72 ± 27
Randsumme	53 ± 28	55 ± 24	57 ± 29	

Eine Zusammenstellung der Ausgangswerte, der Minima nach der jeweiligen Abkühlung sowie dem Wiedererreichen des Ausgangsniveaus der HF aller untersuchten Embryonen ist in Tab. 26 im Anhang ersichtlich.

C 2. Auswertung der Eiinnentemperatur

Im folgenden Abschnitt wird das Verhalten der EIT von Eiern mit lebenden Embryonen unterschiedlichen Alters in den verschiedenen Phasen des Versuchsablaufes untersucht.

C 2.1. EiinnentemperturAusgangswerte

Zur Berechnung der durchschnittlichen EIT der einzelnen Embryonen wurden alle registrierten EIT-Werte vor Versuchsbeginn genutzt. In Abb. 10 sind diese EIT-Ausgangswerte abgebildet.

Ergebnisse

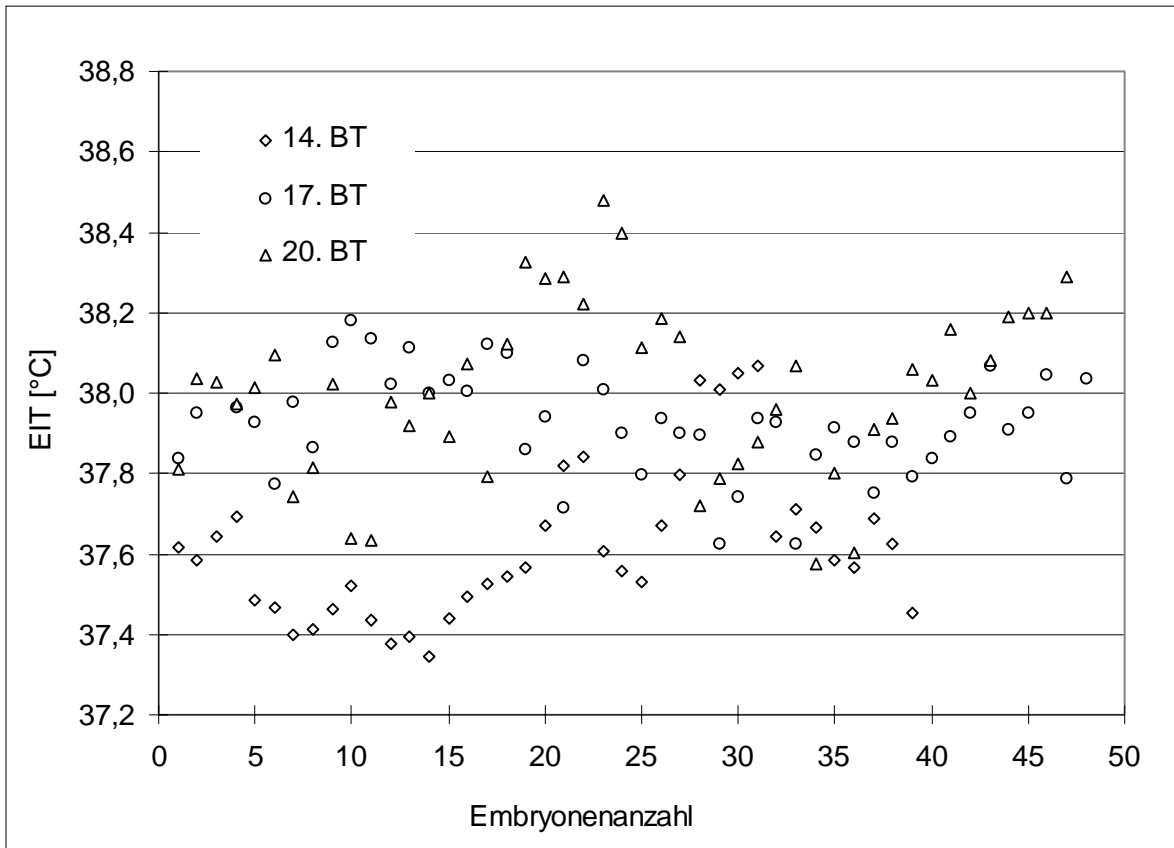


Abb. 10: EIT-Ausgangswerte der einzelnen Embryonen.

Bis auf 4 von insgesamt 39 Eiern des 14. BT lagen bei allen anderen untersuchten Embryonen des 14., 17. und 20. BT die EIT-Ausgangswerte höher als die Inkubationstemperatur von 37,4 °C.

Aus den durchschnittlichen EIT-Werten der einzelnen Embryonen wurde die durchschnittliche EIT der Altersstufen berechnet. Unter den gegebenen Umständen wurden für den 14. BT EIT-Ausgangswerte von 37,6 °C, für den 17. BT EIT-Ausgangswerte von 37,9 °C und für den 20. BT EIT-Ausgangswerte von 38,0 °C ermittelt (Tab. 11).

Tab. 11: EIT-Ausgangswerte von Hühnerembryonen des 14., 17. und 20. BT

	14. BT	17. BT	20. BT
x ± s [°C]	37,61 ± 0,189	37,94 ± 0,166	38,01 ± 0,212
M [°C]	37,58	37,93	38,02
Vk	0,50	0,44	0,56
n	39	48	47

Mit zunehmendem Alter stieg die EIT an.

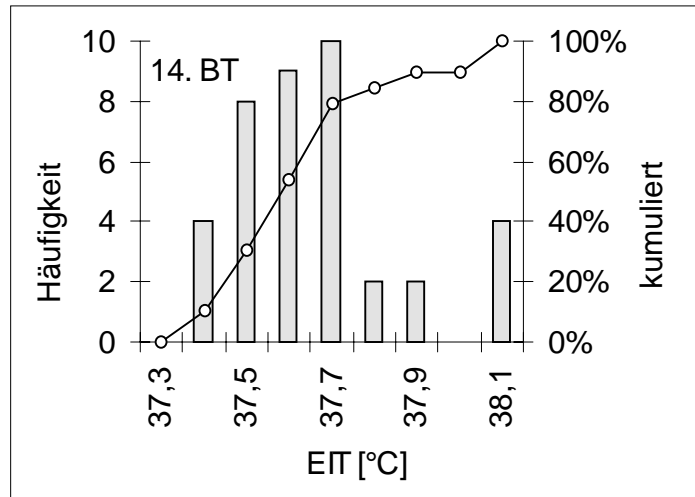
Die Embryonen der drei untersuchten Altersstufen unterschieden sich in ihrer EIT-Werten signifikant voneinander ($p = 0,0001$).

Abb. 11 zeigt die Histogramme mit empirischer Verteilungsfunktion der EIT-Ausgangswerte der drei Untersuchungsreihen.

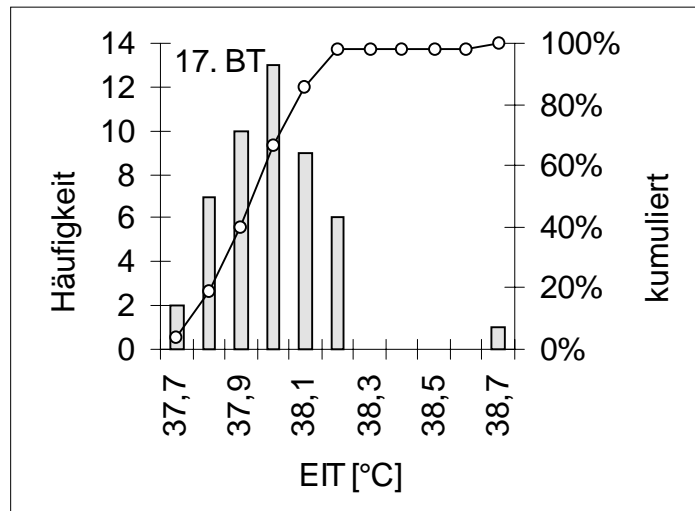
Aufgrund der empirischen Verteilungsfunktion und des Quotienten aus Mittelwert und Median konnte für die EIT-Ausgangswerte der in die Untersuchungen einbezogenen Embryonen eine Normalverteilung angenommen werden.

Ergebnisse

14. BT		n= 39	
EIT [°C]	Häufigkeit		
	absolut	kumuliert	
37,3	0	0,0 %	
37,4	4	10,3 %	
37,5	8	30,8 %	
37,6	9	53,8 %	
37,7	10	79,5 %	
37,8	2	84,6 %	
37,9	2	89,7 %	
38,0	0	89,7 %	
38,1	4	100,0 %	



17. BT		n= 48	
EIT [°C]	Häufigkeit		
	absolut	kumuliert	
37,7	2	4,2 %	
37,8	7	18,8 %	
37,9	10	39,6 %	
38,0	13	66,7 %	
38,1	9	85,4 %	
38,2	6	97,9 %	
38,3	0	97,9 %	
38,4	0	97,9 %	
38,5	0	97,9 %	
38,6	0	97,9 %	
38,7	1	100,0 %	



20. BT		n= 47	
EIT [°C]	Häufigkeit		
	absolut	kumuliert	
37,6	1	2,1 %	
37,7	3	8,5 %	
37,8	4	17,0 %	
37,9	6	29,8 %	
38,0	7	44,7 %	
38,1	11	68,1 %	
38,2	8	85,1 %	
38,3	4	93,6 %	
38,4	2	97,9 %	
38,5	1	100,0 %	

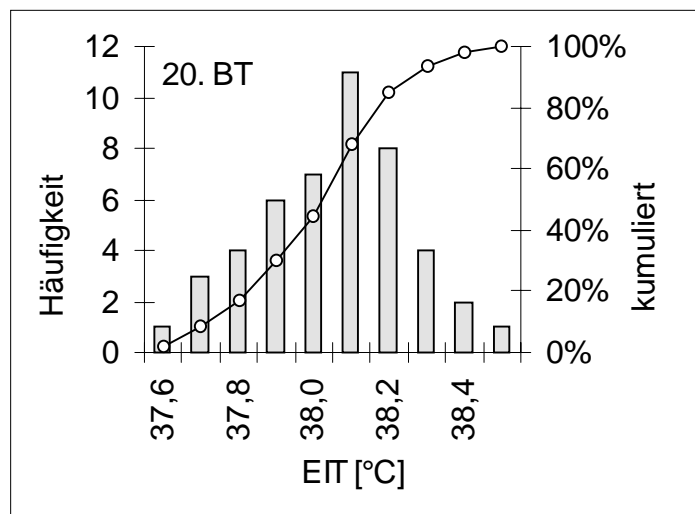


Abb. 11: Histogramme der EIT-Ausgangswerte der Altersstufen 14. BT, 17. BT und 20. BT.

C 2.2. Eiinnentemperatur während der Abkühlung

Die EIT fiel in allen drei Altersstufen während der Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) von ihrem Ausgangsniveau ab.

Abb. 12 zeichnet den Verlauf der durchschnittlichen EIT der drei Untersuchungsreihen während der Abkühlung auf.

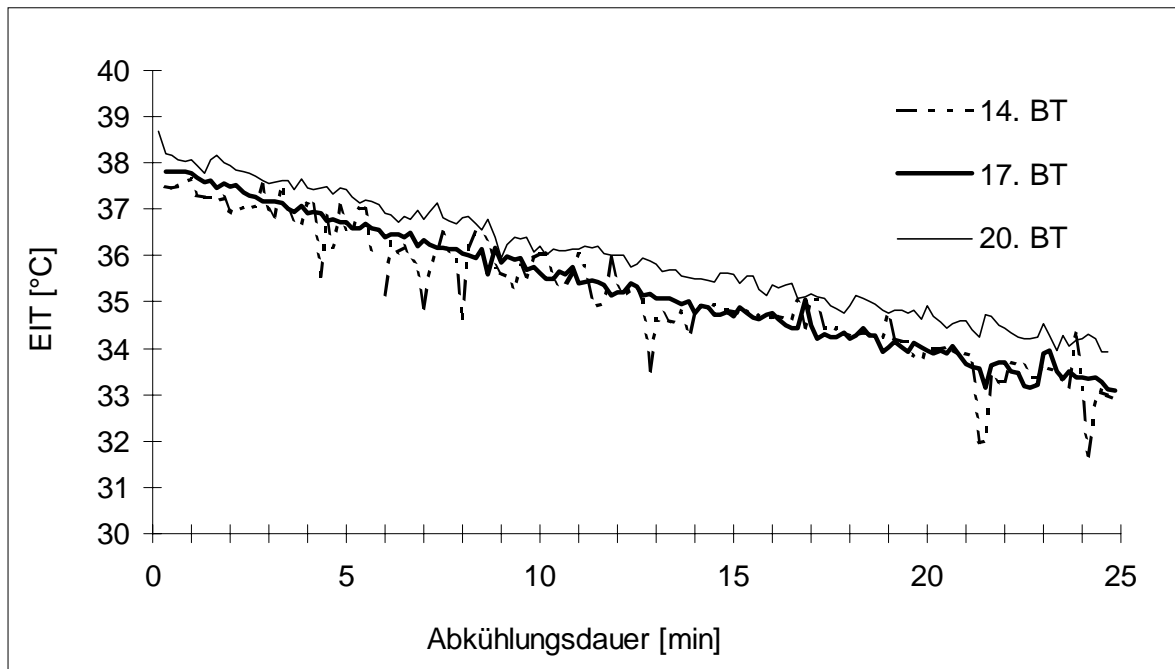


Abb. 12: Durchschnittlicher EIT-Verlauf von Eiern mit Embryonen des 14. BT ($n=4$), 17. BT ($n=11$) und 20. BT ($n=8$) während 25minütiger Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C).

Aus den für jeden Embryo einzeln ermittelten Regressionen des EIT-Verlaufes während der 25minütigen Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) wurden die Regressionsgleichungen für die drei Altersstufen berechnet:

14. BT	$y = -0,0266 x + 37,6945$	mit R^2 von 0,9876 bis 0,9912
	$y = 37,7295e^{-0,0007x}$	mit R^2 von 0,9883 bis 0,9918
17. BT	$y = -0,029 x + 37,744$	mit R^2 von 0,9675 bis 0,9862
	$y = 37,787e^{-0,0008x}$	mit R^2 von 0,9706 bis 0,989
20. BT	$y = -0,02865 x + 38,1085$	mit R^2 von 0,9692 bis 0,9938
	$y = 37,614e^{-0,0009x}$	mit R^2 von 0,9749 bis 0,9948

Ergebnisse

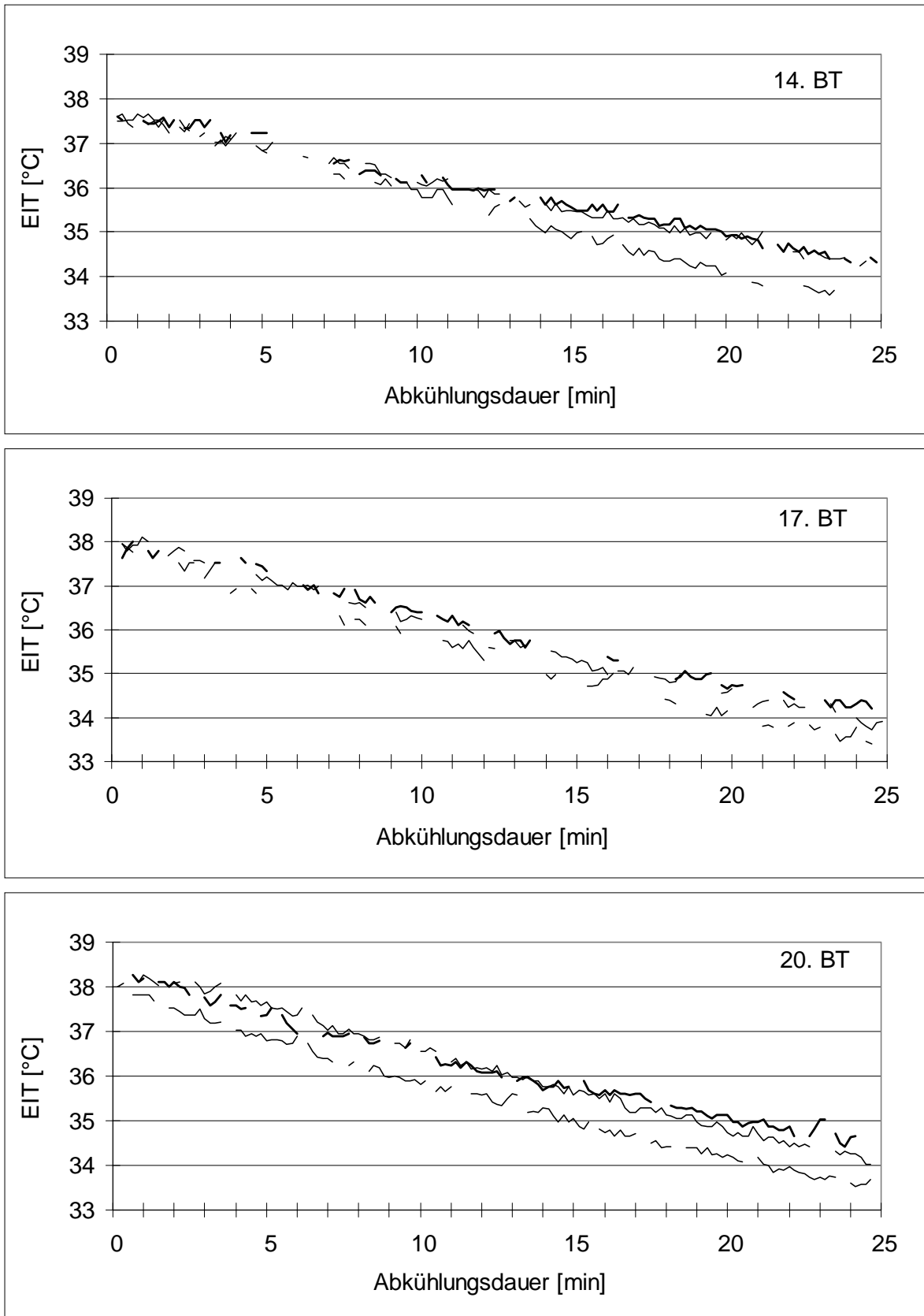


Abb. 13: EIT-Verlauf während 25minütiger Abkühlung bei Raumtemperatur (je Gruppe drei zufällig ausgewählte Einzelbeispiele).

Die Kurven der durchschnittlichen EIT-Abfälle wiesen während der Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) einen wenig ausgeprägten exponentiellen, fast linearen Trend auf.

Es konnten keine wesentlichen Unterschiede zwischen den drei untersuchten Altersstufen nachgewiesen werden.

Zur Verdeutlichung der guten Trendübereinstimmung zwischen einzelnen Eiern wurden in Abb. 13 zufällig ausgewählte Einzelbeispiele des EIT-Verlaufes während der Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) dargestellt.

C 2.3. Eiinnentemperatur nach der Abkühlung

Im folgenden Abschnitt werden die minimalen Werte der EIT nach der jeweiligen Abkühlungsdauer ausgewertet. Um den Abfall der EIT zwischen den Altersstufen trotz unterschiedlicher Ausgangswerte vergleichen zu können, wurde, wie in Abschnitt C 1.3., auf prozentuale Angaben zurückgegriffen und die individuellen Ausgangswerte jeweils 100 % gesetzt.

In allen Altersstufen fiel die EIT mit zunehmender Abkühlungsdauer weiter von ihrem Ausgangsniveau ab (Tab. 12).

Mit Hilfe der zweifaktoriellen Varianzanalyse konnte ein signifikanter Einfluß sowohl des Alters ($p = 0,0266$) als auch der Abkühldauer ($p = 0,0001$) auf den prozentualen Abfall der EIT nach der Abkühlung nachgewiesen werden. Die Wechselwirkung zwischen diesen beiden Faktoren hingegen hatte keinen deutlichen Einfluß ($p = 0,1211$).

Tab. 12: Durchschnittlicher Abfall der EIT auf Prozent des jeweiligen Ausgangsniveaus \bar{x} mit Standardabweichung s und Eieranzahl n .

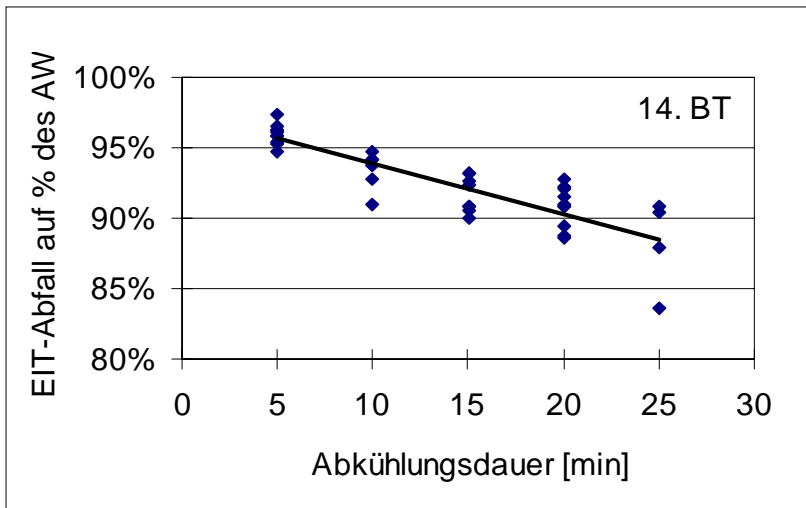
Abkühlungsdauer [min]	14. BT		17. BT		20. BT	
	$\bar{x} \pm s$ [%]	n	$\bar{x} \pm s$ [%]	n	$\bar{x} \pm s$ [%]	n
5	96,0 ± 0,7	10	96,0 ± 1,0	9	96,8 ± 0,7	10
10	93,5 ± 1,2	7	94,3 ± 1,0	10	93,8 ± 1,0	11
15	91,7 ± 1,3	8	91,2 ± 1,4	10	92,5 ± 1,9	8
20	90,8 ± 1,4	10	88,9 ± 2,5	8	89,9 ± 1,5	10
25	88,2 ± 3,3	4	87,2 ± 1,5	11	88,7 ± 1,2	8

Als multipler Anschlußtest zum Vergleich der einzelnen Faktoren wurde der Tukey-Test durchgeführt. Zwischen den prozentualen Abfällen der EIT der Eier mit den Embryonen des 14. BT und 17. BT sowie zwischen denen des 17. BT und 20. BT konnten signifikante Unterschiede nachgewiesen werden, zwischen denen des 14. BT und des 20. BT waren keine Unterschiede zu sichern.

Der Faktor Abkühlungsdauer hatte in jedem Fall einen signifikanten Einfluß auf den prozentualen Abfall der EIT.

In Abb. 14 werden die prozentualen Abfälle der EIT der einzelnen Eier mit Embryonen unterschiedlicher Altersstufen nach der Abkühlung dargestellt.

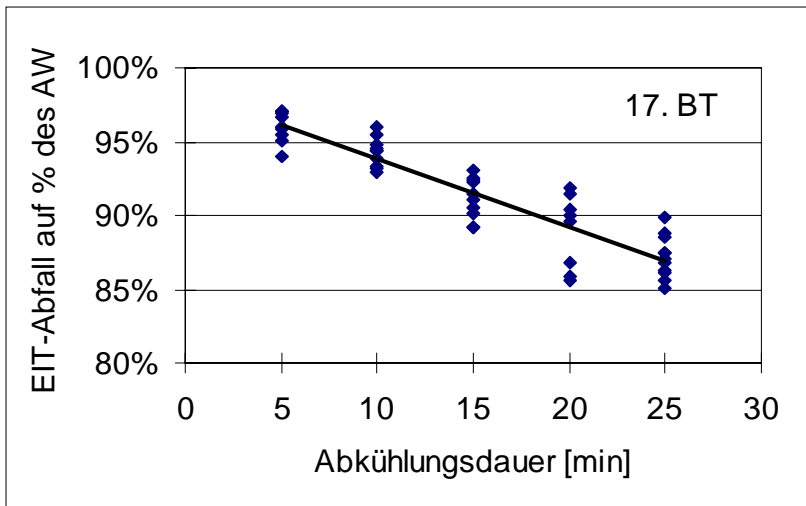
Ergebnisse



14. BT:

$$y = -0,004x + 0,98$$

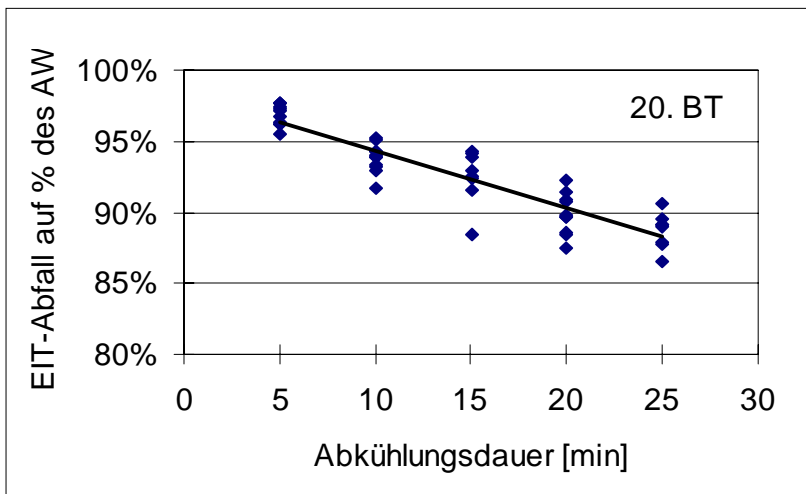
$$R^2 = 0,7362$$



17. BT:

$$y = -0,004x + 0,98$$

$$R^2 = 0,83$$



20. BT:

$$y = -0,0041x + 0,984$$

$$R^2 = 0,8279$$

Abb. 14: Prozentualer Abfall der EIT nach unterschiedlich langer Abkühlung bei Raumtemperatur der einzelnen Eier mit Embryonen des 14. BT, 17. BT und 20. BT.

C 2.4. Eiinnentemperatur während der Wiedererwärmung

Die EIT stieg während der Wiedererwärmung unter Inkubationsbedingungen in allen 15 Untersuchungsgruppen wieder an. Der Anstieg der EIT war durch einen logarithmischen Verlauf gekennzeichnet.

Zunächst wurden die Regressionsgleichungen für den EIT-Verlauf jedes einzelnen Embryos ermittelt. Daraus konnten die Regressionen für die jeweilige Gruppe berechnet werden:

14. BT: $y = 1,05483 \ln(x) + 30,6638$ mit R^2 von 0,9368 bis 0,9859

17. BT: $y = 1,03956 \ln(x) + 31,4206$ mit R^2 von 0,8968 bis 0,953

20. BT: $y = 1,03796 \ln(x) + 31,625$ mit R^2 von 0,9208 bis 0,9624

Zwischen den verschiedenen Altersstufen konnten keine wesentlichen Unterschiede im EIT-Verlauf während der Wiedererwärmung unter Brutbedingungen nachgewiesen werden.

In Abb. 15 wird der durchschnittliche EIT-Verlauf der drei Altersstufen während der Wiedererwärmung gegenübergestellt.

Ergebnisse

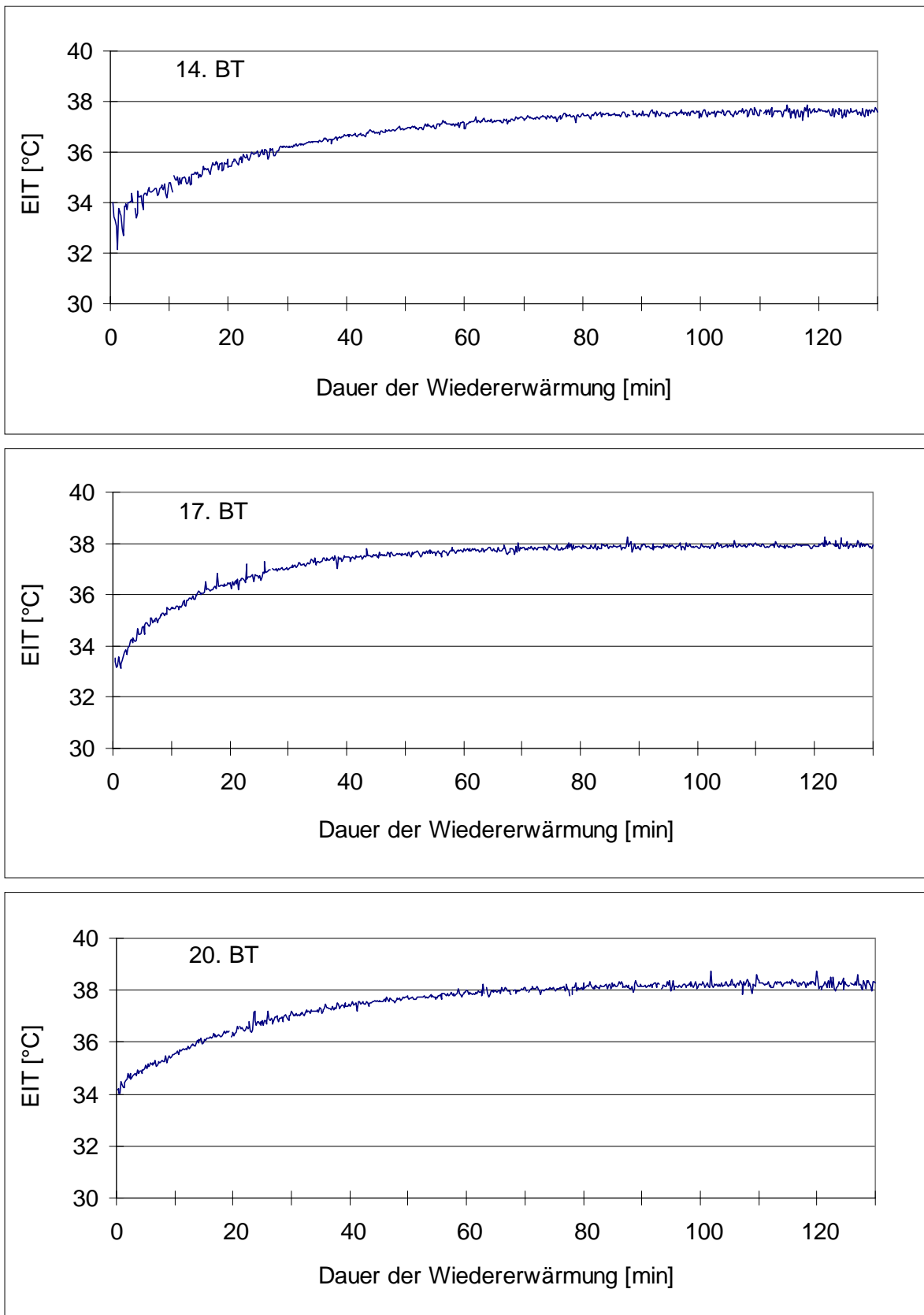


Abb. 15: Durchschnittlicher EIT-Verlauf während der Wiedererwärmung unter Brutbedingungen nach vorangegangener 25minütiger Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) (14. BT: $n = 4$, 17. BT: $n = 11$, 20. BT: $n = 8$).

C 2.5. Wiedererreichen des Eiinnentemperaturniveaus

Das Ausgangsniveau der EIT galt als wiedererreicht, wenn die momentanen Werte bei einer Meßfrequenz von 10 Sekunden 19 mal hintereinander im Bereich des durchschnittlichen Ausgangswertes $\pm 0,2$ °C lagen.

Diese Bedingungen wurden so festgelegt, weil:

- ◆ 19mal einen Wert innerhalb eines festgelegten Bereiches bei einer Meßfrequenz von 10 Sekunden erreichen, bedeutet ein Konstanthalten über insgesamt drei Minuten;
- ◆ die Meßgenauigkeit der Thermosensoren von $\pm 0,1$ °C und die Streuung des durchschnittlichen EIT-Ausgangswertes von fast $\pm 0,2$ °C einen Schwankungsbereich von $\pm 0,2$ °C rechtfertigen.

Bei Erfüllung dieser strengen Kriterien, enger Temperaturbereich und hohe Meßfrequenz über mehrere Minuten, kann das dauerhafte Erreichen des Ausgangsniveaus angenommen werden.

Die EIT wurde während der Wiedererwärmung unter Brutbedingungen, wie auch die HF (Abschnitt C 1.5.), nach nur kurzzeitiger Abkühlung wenigstens 90 Minuten, nach 15minütiger und längerer Abkühlung wenigstens 120 Minuten registriert.

Wieviele Embryonen ihr EIT-Ausgangsniveau innerhalb der Aufzeichnungsdauer wiedererlangten, wird in Tab. 13 aufgeführt.

Da fast zwei Drittel (64 %) der untersuchten Embryonen ihr EIT-Ausgangsniveau innerhalb der Aufzeichnungsdauer wiedererreichten, ist davon auszugehen, daß die Dauer der Aufzeichnung während der Wiedererwärmung unter Brutbedingungen allgemein ausreichend war. Daß einige Embryonen dennoch ihr EIT-Ausgangsniveau nicht wiedererlangten, kann sowohl technische als auch physiologische Ursachen haben.

Ergebnisse

Tab. 13: Gegenüberstellung, wieviel der untersuchten Embryonen (*n*) ihr EIT-Ausgangsniveau innerhalb der Aufzeichnungsdauer wiedererreichten (*N*).

Abkühl- dauer [min]	14. BT		17. BT		20. BT	
	n	N	n	N	n	N
5	10	8	9	4	10	6
10	7	7	10	8	11	4
15	8	4	10	10	8	7
20	10	8	8	7	10	5
25	4	3	11	4	8	1

Die folgenden Betrachtungen stützen sich auf Werte von Embryonen, die ihr EIT-Ausgangsniveau innerhalb der Aufzeichnungsdauer wiedererreichten.

Die durchschnittliche Dauer bis zur Wiedererlangung des EIT-Ausgangsniveau der einzelnen Versuchsgruppen ist Tab. 14 zu entnehmen. In Einzelfällen gab es erhebliche Abweichungen von diesen Durchschnittswerten.

Tab. 14: Durchschnittliche Dauer \bar{x} mit Standardabweichung s der einzelnen Versuchsgruppen, bis das EIT-Ausgangsniveau wiedererreicht wurde.

Abkühlungsdauer	14	17	20	Randsumme
[min]	$\bar{x} \pm s$ [min]	$\bar{x} \pm s$ [min]	$\bar{x} \pm s$ [min]	$\bar{x} \pm s$ [min]
5	53 ± 16	126 ± 52	74 ± 36	76 ± 43
10	63 ± 12	81 ± 15	50 ± 13	68 ± 18
15	86 ± 22	74 ± 21	55 ± 9	70 ± 21
20	82 ± 22	59 ± 28	96 ± 20	76 ± 27
25	90 ± 8	101 ± 11	116	99 ± 12
Randsumme	71 ± 22	82 ± 32	71 ± 28	

Es konnten Unterschiede in der Dauer bis zur Wiedererlangung der EIT - Ausgangsniveaus in Abhängigkeit der vorangegangener Abkühlungsdauer ($p = 0,0204$), nicht aber in Abhängigkeit des Alters der untersuchten Embryonen ($p = 0,084$) nachgewiesen werden. Die Wechselwirkung der beiden Faktoren, Abkühlungsdauer und Alter der Embryonen, hatte einen deutlichen Einfluß ($p = 0,0001$) auf die Dauer bis zur Wiedererlangung der EIT -Ausgangswerte.

Der Anschlußtest nach Tukey wies Unterschiede zwischen den Gruppen mit 25- und 15minütiger bzw. 25- und 10minütiger Abkühlungsdauer aus. Zwischen den anderen Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

Eine Zusammenstellung der Ausgangswerte, der Minima nach der jeweiligen Abkühlung sowie dem Wiedererreichen des Ausgangsniveaus der EIT aller untersuchten Embryonen ist in Tab. 26 im Anhang ersichtlich.

C 3. Korrelation zwischen Herzfrequenz und Eiinnentemperatur

In dem folgenden Abschnitt wird die Korrelation zwischen der HF und der EIT in den verschiedenen Phasen des Versuchsablaufes untersucht. Für die Analysen wurden ausschließlich absolute Werte genutzt.

C 3.1. Korrelation zwischen der Herzfrequenz und Eiinnentemperatur auf dem Ausgangsniveau

Zu Beginn wird die Korrelation zwischen der HF und der EIT für jede Altersstufe ermittelt. Die Grundlage dazu bildeten sämtliche Wertepaare, ohne die Zugehörigkeit zu einzelnen Eiern zu berücksichtigen. In Tab. 15 wurden die Pearson-Korrelationskoeffizienten und die Anzahl der Wertepaare aufgeführt.

Tab. 15: Korrelation zwischen HF- und EIT-Ausgangswerten von Embryonen des 14. BT, 17. BT und 20. BT.

	14. BT	17. BT	20. BT
r	0,28329	0,33086	0,06986
n	57	113	99

Die beiden untersuchten Parameter korrelierten unter den gegebenen Ausgangsbedingungen nicht bzw. nur sehr schwach linear miteinander. Diese Tatsache wird in Abb. 16 durch die Punktwolken deutlich. Gleichzeitig treten zwei andere Faktoren zutage. Zum einen verschieben sich die Punktwolken mit zunehmendem Alter auf der Abszisse in Richtung höherer EIT, zum anderen wird eine größere Schwankungsbreite der HF am 20. BT im Vergleich zu den anderen Altersstufen erkennbar.

Ergebnisse

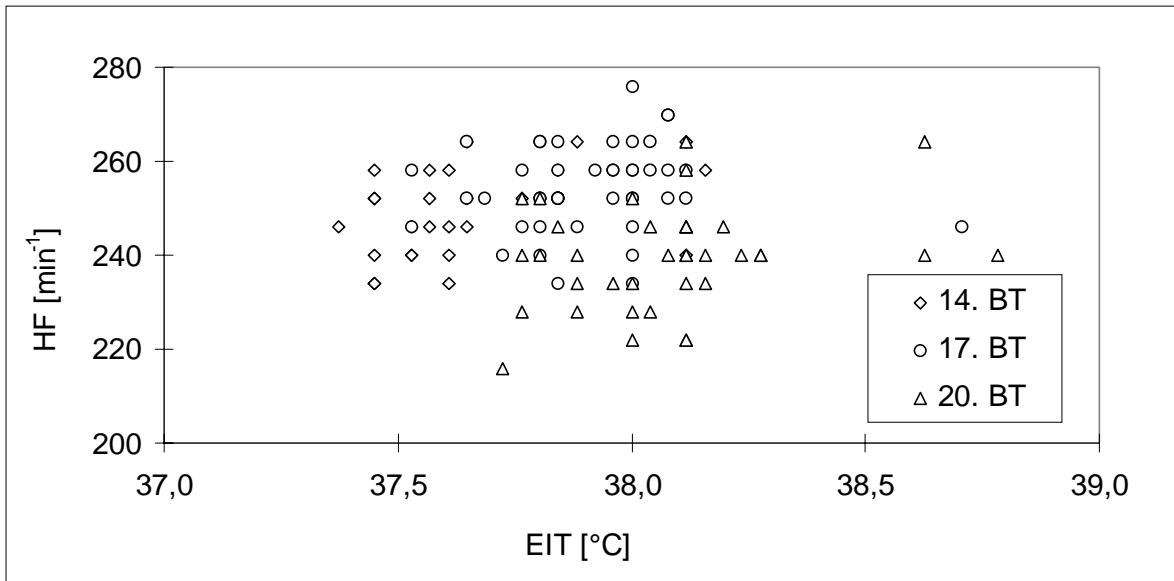


Abb. 16: Korrelation zwischen den HF- und EIT- Ausgangswerten von Embryonen des 14. BT, 17. BT und 20. BT.

C 3.2. Korrelation zwischen der Herzfrequenz und Eiinnentemperatur während der Abkühlung

Zunächst wurde die Korrelation zwischen der HF und der EIT während der Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) für jedes Ei untersucht (insgesamt 134 Eier des 14. BT, 17. BT und 20. BT). Für die Gruppen mit 25minütiger Abkühlung werden in Tab. 16 die Mediane, die Minima und die Maxima, die Korrelationskoeffizienten der einzelnen Eier sowie die Korrelationskoeffizienten der gesamten Gruppen angegeben.

Tab. 16: Korrelation zwischen der HF und der EIT während 25minütiger Abkühlung bei Raumtemperatur.

	14. BT	17. BT	20. BT
n	4	11	8
Korrelationkoeffizienten einzelner Eier			
r_M	0,987	0,911	0,951
r_{min}	0,985	0,719	0,871
r_{max}	0,994	0,976	0,988
Korrelationkoeffizienten gesamter Gruppen			
r_{ges}	0,833	0,875	0,888

Auffällig war ein sehr hoher linearer Zusammenhang zwischen HF und EIT der einzelnen Eier während der Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C). Betrachtet man den Zusammenhang zwischen den beiden Parametern in der gesamten Gruppe, sinkt der Korrelationskoeffizient.

Um diese Differenz zu analysieren, wurden die Korrelationen zwischen der HF und der EIT für jedes einzelne Ei graphisch dargestellt. Abb. 17 zeigt zufällig ausgewählte Beispiele.

Durch die Parallelität der Graphen wurde deutlich, daß verschiedene Eier bei annähernd gleicher Steigung auf unterschiedlichem Niveau der EIT agieren.

Diese Tatsache wurde durch einen Vergleich der für jedes einzelne Ei berechneten linearen Regression bestätigt.

Die gemittelten Regressionen für den Zusammenhang der HF und EIT während 25minütiger Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) betragen für die Altersstufen

14. BT: $y = 19,506 x - 479,537$ mit R^2 von 0,9706 bis 0,9873 (n = 4)

17. BT: $y = 16,263 x - 374,76$ mit R^2 von 0,5172 bis 0,9526 (n = 11)

20. BT: $y = 18,288 x - 446,428$ mit R^2 von 0,758 bis 0,9757 (n = 8)

Ergebnisse

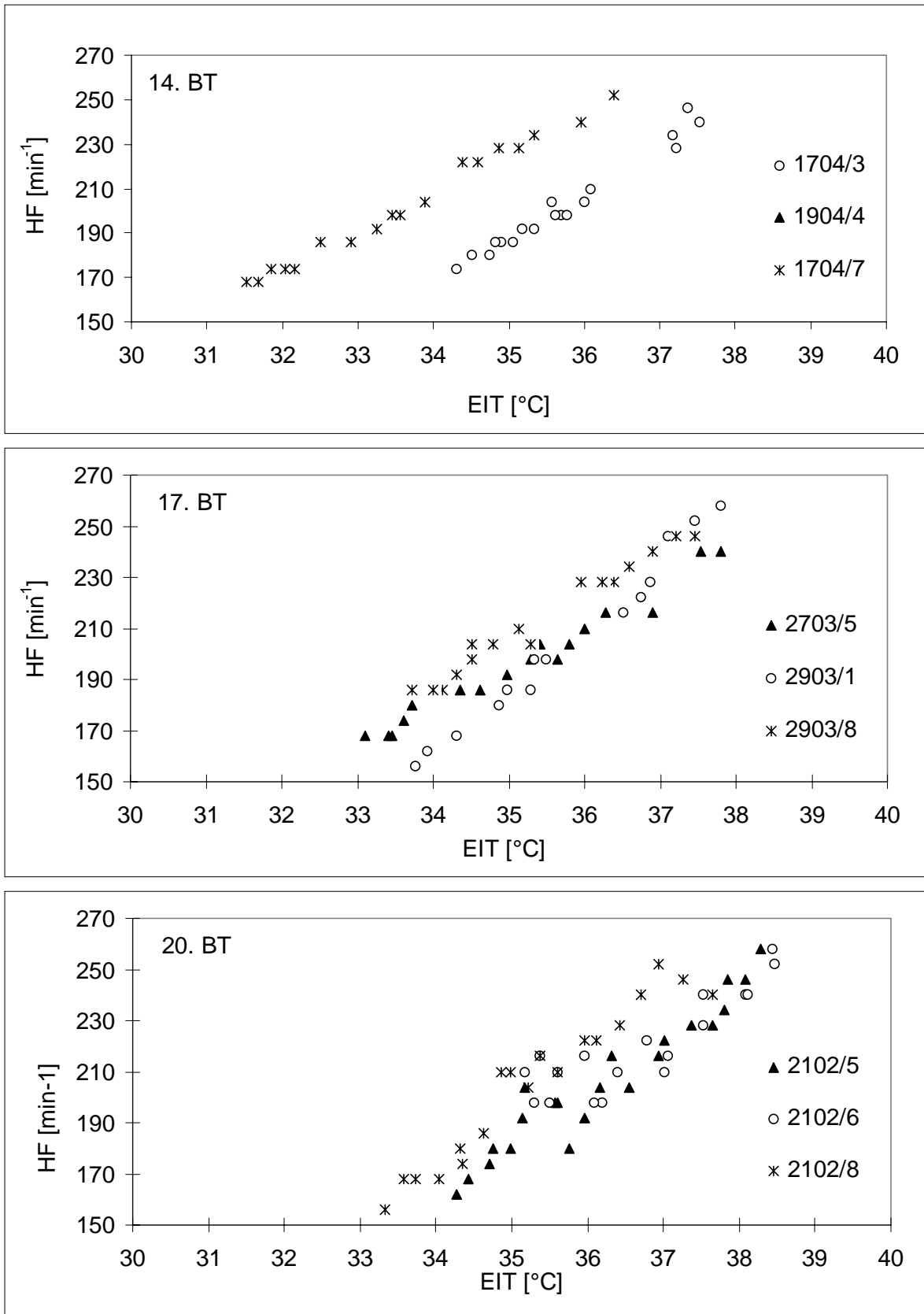


Abb. 17: Korrelation zwischen HF und EIT während 25minütiger Abkühlung (je Altersstufe drei zufällig ausgewählte Einzelbeispiele).

Die drei untersuchten Altersstufen unterschieden sich weder im Anstieg, noch im Niveau der linearen Regression zwischen HF und EIT grundlegend voneinander. Insgesamt kann von einem hohen linearen positiven Zusammenhang zwischen der HF und der EIT während der Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) in allen drei Altersstufen ausgegangen werden.

C 3.3. Korrelation zwischen der Herzfrequenz und Einnentemperatur nach der Abkühlung

In diesem Abschnitt wird die Korrelation der nach Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) erreichten minimalen Werte der HF und der EIT ausgewertet.

In die Untersuchung der Korrelation zwischen HF-Minima und EIT-Minima der 15 unterschiedlichen Versuchsgruppen flossen Werte verschiedener Eier. Aus diesem Grund war der Korrelationskoeffizient nicht so hoch wie im vorangegangenen Abschnitt für einzelne Eier.

Weiterhin ist zu berücksichtigen, daß die Minimalwerte nicht unbedingt zum Ende des Abkühlungsprozesses auftraten, sondern durch verzögerte Reaktion in den ersten Sekunden bis Minuten der Wiedererwärmung liegen konnten. Aus diesem Grund mußten die minimalen HF-Werte nicht zeitgleich mit den minimalen EIT-Werten auftreten.

In Abb. 18 werden die nach 25minütiger Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) erreichten minimalen HF- und EIT-Werte und in Tab. 17 die dazugehörigen Korrelationskoeffizienten aufgeführt.

Ergebnisse

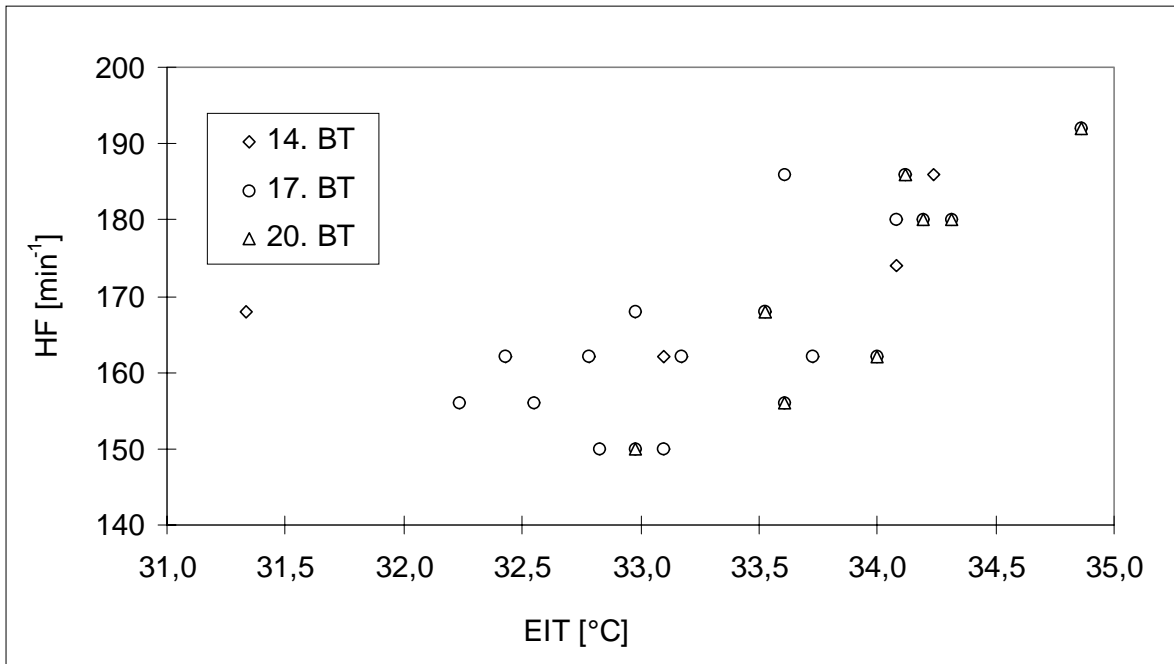


Abb. 18: Korrelation der minimalen HF- und EIT-Werte nach 25minütiger Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C).

Tab. 17: Korrelationskoeffizienten zu den in Abb. 18 gezeigten Zusammenhängen zwischen minimalen HF- und EIT-Werten.

	14. BT	17. BT	20. BT
r	0,604	0,642	0,889
n	4	11	8

Bei den minimalen HF-Werten und den dazugehörenden minimalen EIT-Werten war eine gute Übereinstimmung zwischen den verschiedenen Altersstufen auffällig.

C 3.4. Korrelation zwischen Herzfrequenz und Eiinnentemperatur während der Wiedererwärmung

Bei der Untersuchung der Korrelation der HF und der EIT während der Wiedererwärmung wurden nur die ersten 45 Minuten ausgewertet. Zum einen, weil in diesem Zeitabschnitt die meisten Veränderungen in den beiden zu untersuchenden Größen HF und EIT zu erwarten waren, zum anderen, weil nach diesen 45 Minuten die Erfassungsfrequenz der HF herabgesetzt wurde.

Zunächst wurde abermals für jedes einzelne Ei (insgesamt 134 Eier des 14. BT, 17. BT und 20. BT) der Zusammenhang zwischen HF und EIT während der Wiedererwärmung berechnet. In Tab. 18 sind für die Gruppen mit 25minütiger Abkühlung die Mediane, die Minima und die Maxima der Korrelationskoeffizienten der einzelnen Eier sowie die Korrelationskoeffizienten der gesamten Gruppen aufgeführt.

Tab. 18: *Korrelation zwischen der HF und der EIT während der ersten 45 Minuten Wiedererwärmung unter Brutbedingungen nach 25minütiger Abkühlung*

	14. BT	17. BT	20. BT
n	4	11	8
Korrelationskoeffizienten einzelner Eier			
r_M	0,976	0,813	0,904
r_{min}	0,959	0,344	0,700
r_{max}	0,986	0,958	0,946
Korrelationskoeffizienten gesamter Gruppen			
r_{ges}	0,877	0,674	0,865

Auch hier trat eine hohe lineare Korrelation zwischen HF und EIT für jedes einzelne Ei zutage. Der Korrelationskoeffizient für die gesamte Gruppe war jedoch kleiner.

In Abb. 19 werden zufällig ausgewählte Einzelbeispiele aus den Gruppen mit 25 Minuten Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) dargestellt.

Wie bereits in Abb. 17 wird auch hier eine Parallelität zwischen den Graphen deutlich, die unterschiedliche Niveaus bei annähernd gleicher Steigung ausdrückt. Bei einem Vergleich der für jedes Ei einzeln berechneten Regressionen wurde dies bestätigt.

Die Korrelationskoeffizienten für jeweils eine gesamte Gruppe sind während der Wiedererwärmung kleiner als während der Abkühlung. Dies ist unter anderem auf die unterschiedlich schnelle Reaktion der HF und der EIT zurückzuführen. Die EIT reagierte langsamer als die HF auf thermisch veränderte Umweltbedingungen.

In Abb. 20 werden anhand zufällig ausgewählter Einzelbeispiele die HF und die EIT über den gesamten Versuchszeitraum dargestellt. Dabei kommt auch der starke Zusammenhang zwischen den beiden Parametern in den verschiedenen Versuchsabschnitten zum Ausdruck.

Ergebnisse

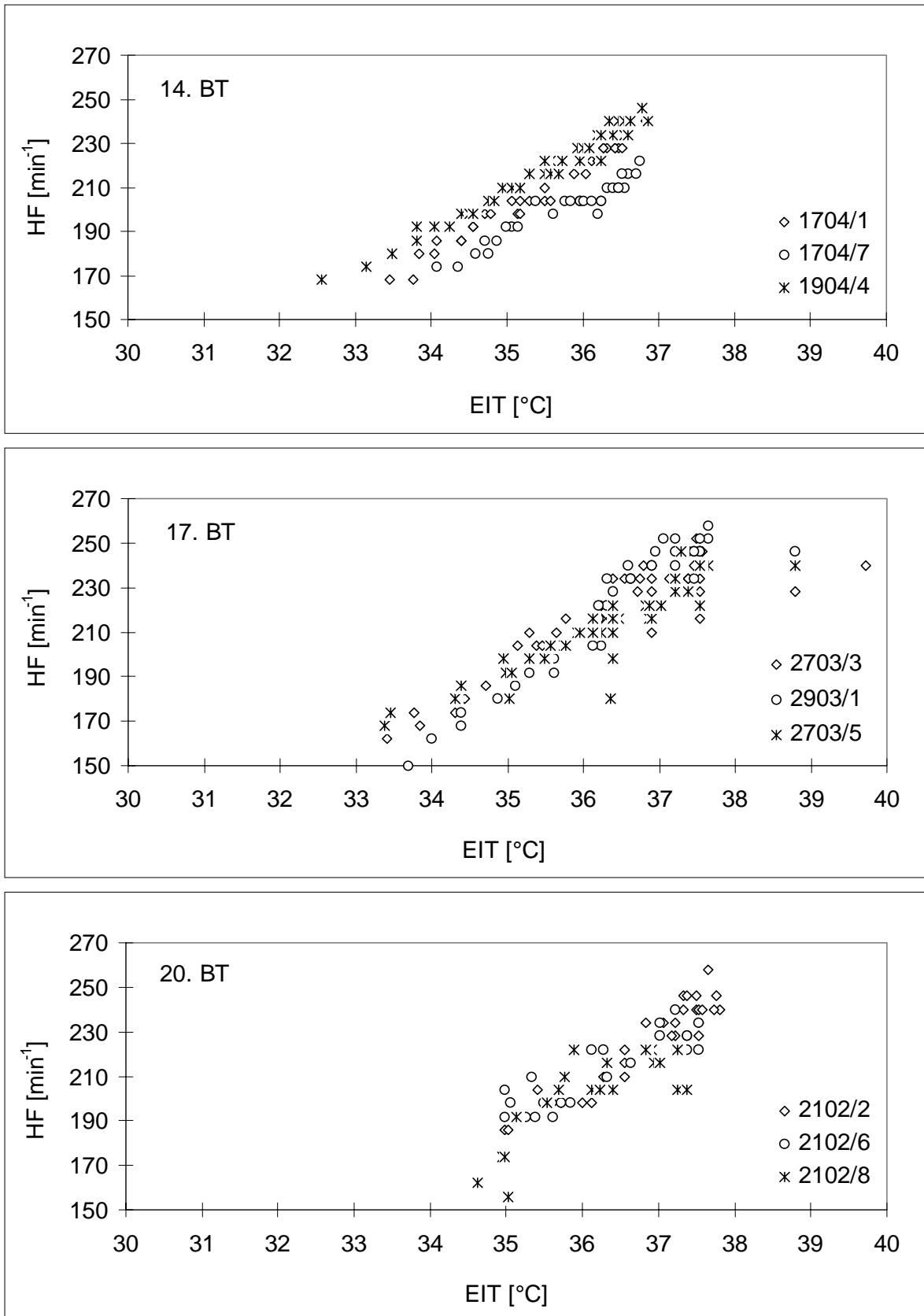


Abb. 19: Korrelation zwischen HF und EIT während der ersten 45 Minuten der Wiedererwärmung nach 25minütiger Abkühlung (je Altersstufe drei zufällig ausgewählte Einzelbeispiele).

Ergebnisse

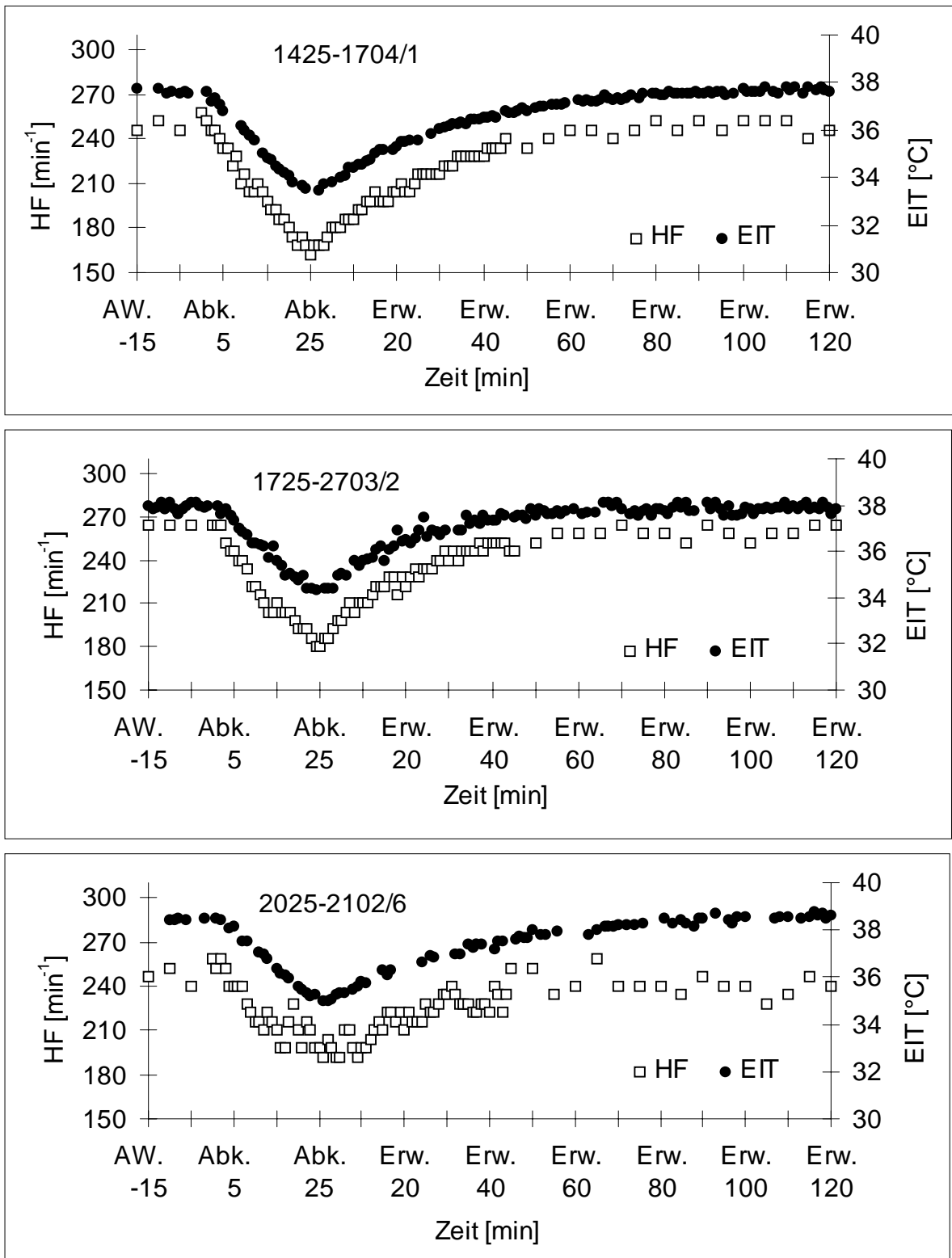


Abb. 20: HF- und EIT-Verlauf während des gesamten Versuchsablaufes anhand zufällig ausgewählter Einzelbeispiele für die untersuchten Altersstufen des 14. BT, 17. BT und 20. BT. (AW.=Ausgangswerte, Abk.=Abkühlung, Erw.=Erwärmung).

C 4. Vergleich zwischen Eiern mit lebenden und mit toten Embryonen

In dem folgenden Abschnitt wird die EIT von Eiern mit getöteten Embryonen und von Eiern mit lebenden Embryonen in den verschiedenen Phasen des Versuchsablaufes vergleichend untersucht.

C 4.1. Eiinnentempertur Ausgangswerte

Zunächst wurde die durchschnittliche EIT der einzelnen Eier mit getöteten (t) Embryonen berechnet. Die Grundlage dazu bildeten alle registrierten EIT-Einzelwerte vor Abkühlungsbeginn.

Aus den durchschnittlichen EIT-Werten der einzelnen Eier erfolgte die Berechnung der durchschnittlichen EIT der Gruppen. Unter den gegebenen Umständen wurden für die Gruppen t 14 EIT-Ausgangswerte von 37,1 °C, für t 17 EIT-Ausgangswerte von 37,2 °C und für t 20 EIT-Ausgangswerte von 37,5 °C ermittelt. Tab. 19 weist zusätzlich die Mediane, die Standardabweichungen, die Variationskoeffizienten und die Anzahl der untersuchten Eier aus.

Tab. 19: *Durchschnittliche EIT-Ausgangswerte der Eier mit getöteten Embryonen der Altersstufen des 14. BT, 17. BT und 20. BT.*

	t 14	t 17	t 20
x ± s [°C]	37,1 ± 0,108	37,2 ± 0,165	37,5 ± 0,102
M [°C]	37,1	37,3	37,5
Vk	0,288	0,444	0,274
n	8	8	8

Die EIT der Eier mit getöteten Embryonen verschiedener Altersstufen unterschieden sich signifikant voneinander (p = 0,0001).

Tab. 20: Gegenüberstellung der EIT-Ausgangswerte von Eiern mit getöteten bzw. lebenden Embryonen der unterschiedlichen Altersstufen.

	14. BT	17. BT	20. BT
lebende Embryonen [°C]	37,6	37,9	38,0
tote Embryonen [°C]	37,1	37,2	37,5
Differenz [°C]	0,5	0,7	0,5

Wie aus Tab. 20 ersichtlich wird, unterscheiden sich die EIT-Ausgangswerte der Eier mit getöteten Embryonen wesentlich ($p = 0,0001$) von den Eiern mit lebenden Embryonen. Dieses wird auch in Abb. 21 deutlich: die EIT von Eiern mit getöteten Embryonen lag in jeder Altersstufe wesentlich unter der EIT vergleichbarer Eier mit lebenden Embryonen.

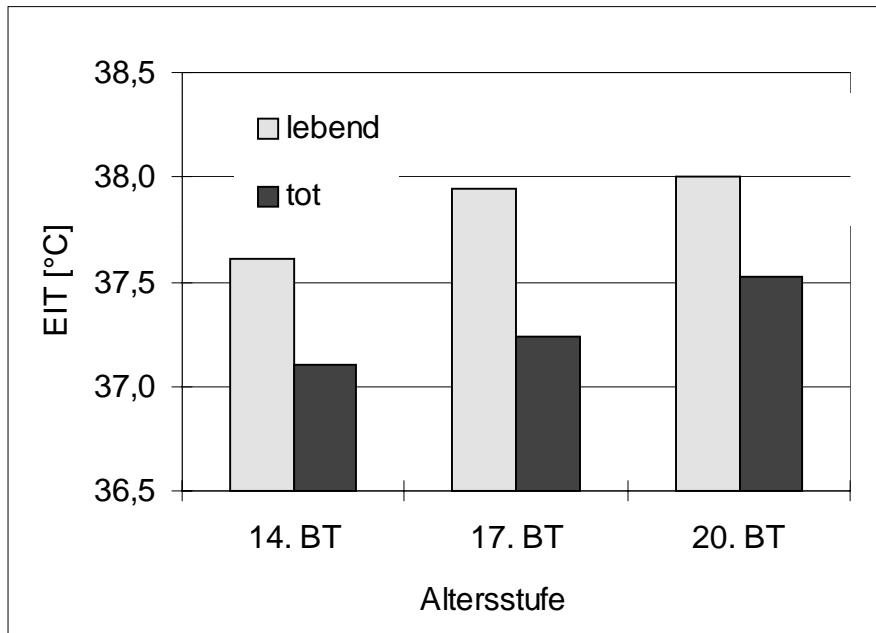


Abb. 21: Vergleich der EIT-Ausgangswerte zwischen Eiern mit lebenden Embryonen und Eiern mit getöteten Embryonen der unterschiedlichen Altersstufen.

C 4.2. Eiinnentemperatur während der Abkühlung

Während der Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) fielen die EIT sowohl der Eier mit lebenden Embryonen (Abschnitt C 2.2.) als auch die EIT der Eier mit getöteten Embryonen vom jeweiligen Ausgangsniveau ab. In Abb. 22 wird der durchschnittliche Verlauf der EIT von Eiern mit lebenden Embryonen und Eiern mit getöteten Embryonen während 20minütiger Abkühlung gegenübergestellt.

In der Altersstufe 14. BT fiel die EIT der Eier mit den getöteten Embryonen wesentlich schneller als die EIT der Eier mit lebenden Embryonen. Dieser Trend blieb über die gesamte Abkühlungsdauer von 20 Minuten bestehen.

Auch in der Altersstufe 17. BT fiel anfänglich die EIT der Eier mit den getöteten Embryonen schneller als die EIT der Eier mit lebenden Embryonen. Jedoch fällt sowohl in Abb. 22 als auch in Abb. 23 auf, daß die EIT der beiden zu vergleichenden Gruppen nach ca. 7 Minuten Abkühlung nahezu parallel sank.

In der Altersstufe 20. BT fielen die EIT-Werte der beiden Gruppen von Beginn der Abkühlung über die gesamte Dauer von 20 Minuten gleichermaßen von ihrem Ausgangsniveau ab.

Um die Unterschiede zwischen den Altersstufen im Verhältnis der EIT von Eiern mit lebenden Embryonen und Eiern mit getöteten Embryonen zu verdeutlichen, werden in Abb. 23 die Differenzen der EIT dargestellt.

Ergebnisse

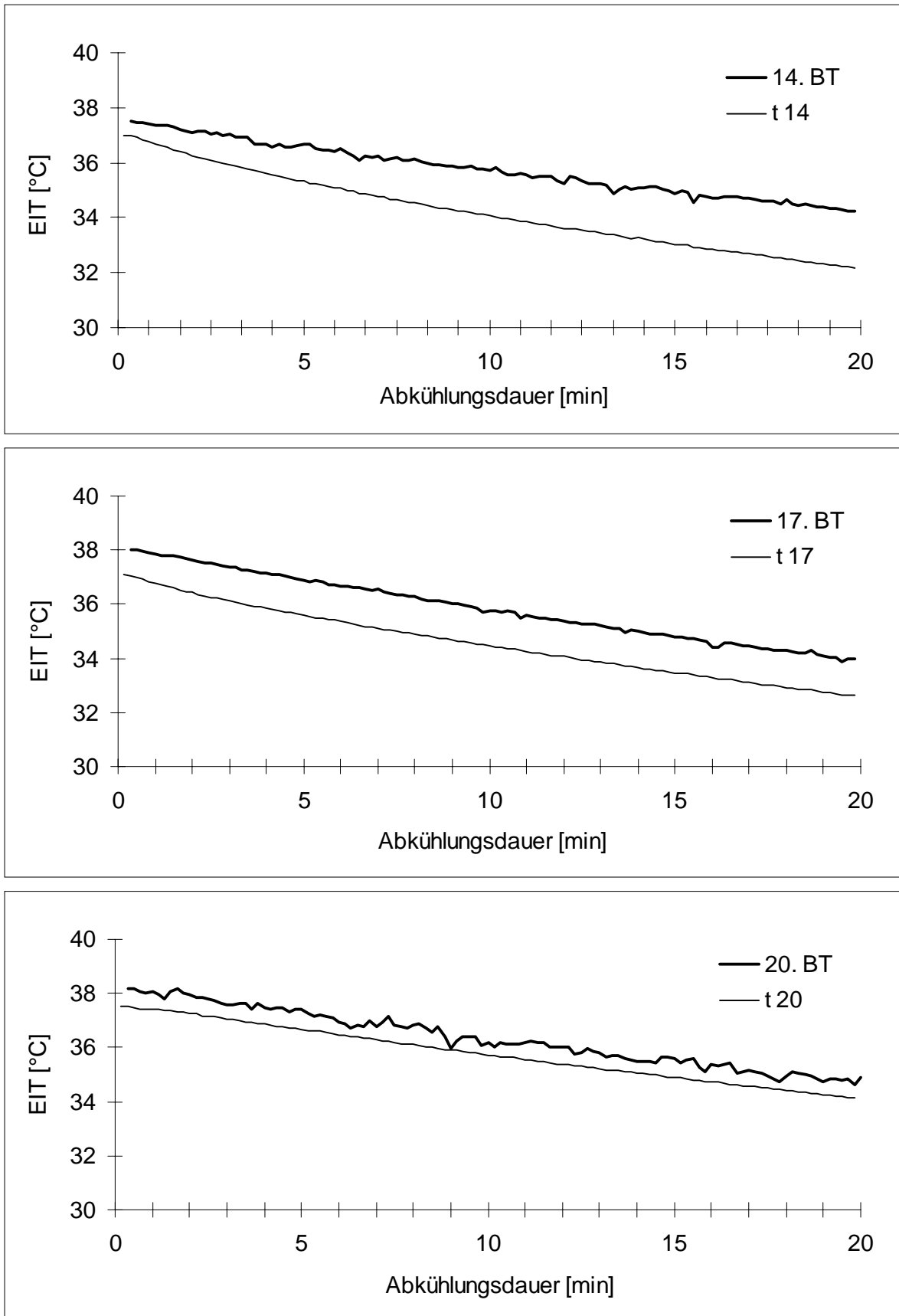


Abb. 22: Gegenüberstellung des durchschnittlichen EIT-Verlaufes während einer 20minütigen Abkühlung von Eiern mit getöteten Embryonen und Eiern mit lebenden Embryonen der Altersstufen 14. BT, 17. BT und 20. BT.

Ergebnisse

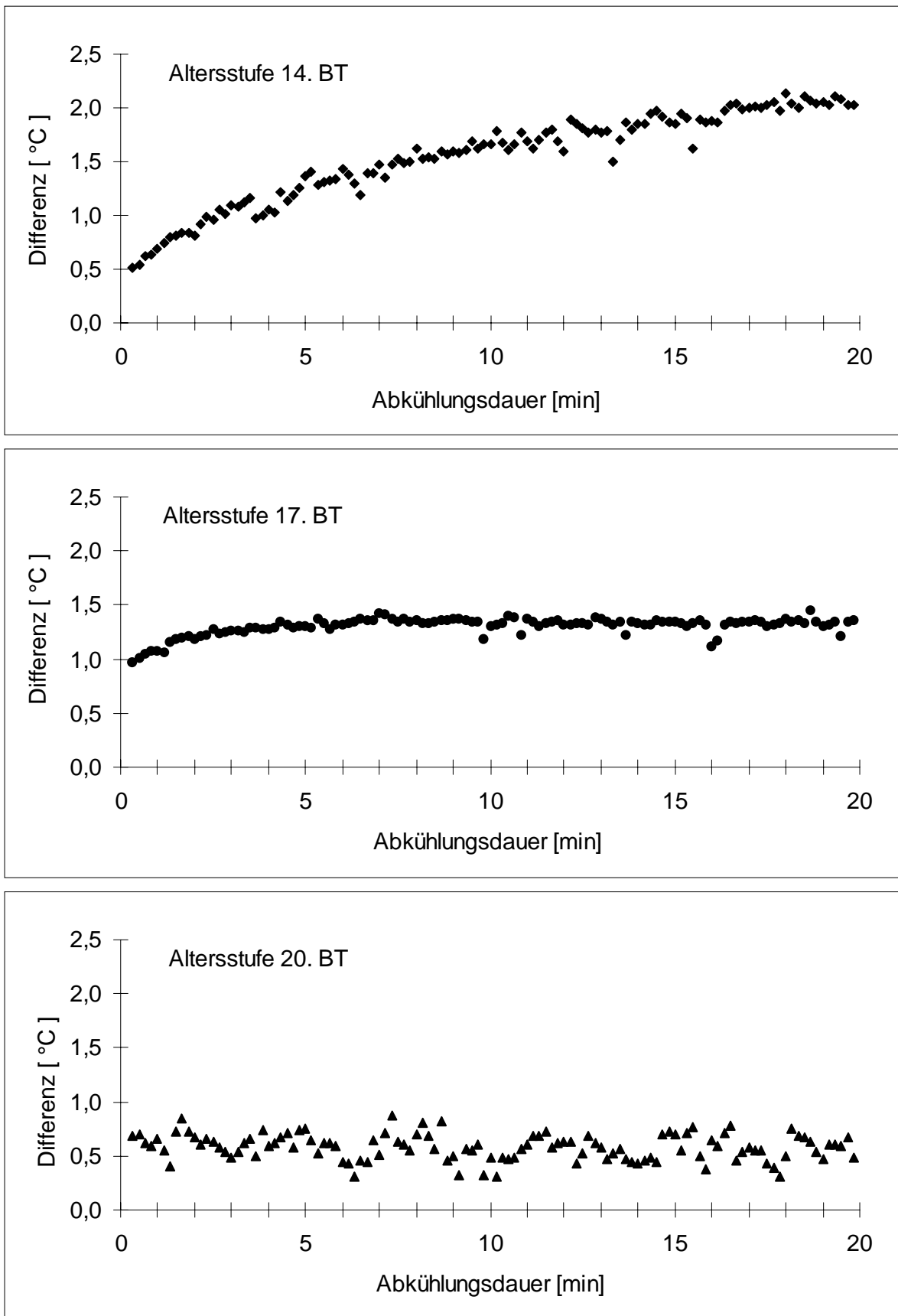


Abb. 23: Differenzen der EIT zwischen Eiern mit lebenden Embryonen und Eiern mit getöteten Embryonen in den Altersstufen des 14. BT, des 17. BT und des 20. BT.

 C 4.3. Eiinnentemperatur nach der Abkühlung

Im weiteren werden die minimalen EIT-Werte nach einer 20minütigen Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) ausgewertet.

Um den Abfall der EIT sowohl zwischen den Altersstufen als auch zwischen den Eiern mit lebenden bzw. getöteten Embryonen vergleichen zu können, wurde, wie schon in den Abschnitten C 1.3. und C 2.3., auf prozentuale Angaben zurückgegriffen. Die einzelnen Ausgangswerte wurden jeweils 100 % gesetzt.

In allen Altersstufen fiel die EIT mit zunehmender Abkühlungsdauer weiter von ihrem Ausgangsniveau ab. In Tab. 21 wird der Abfall der EIT nach 20minütiger Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) ausgewiesen.

Tab. 21: Durchschnittlicher Abfall der EIT auf Prozent des jeweiligen Ausgangsniveaus \bar{x} nach 20minütiger Abkühlung.

	Eier mit getöteten Embryonen			Eier mit lebenden Embryonen		
	t 14	t 17	t 20	14. BT	17. BT	20. BT
x	86,51	87,54	90,80	90,82	88,93	89,88
± s [%]	± 2,69	± 2,47	± 2,04	± 1,44	± 2,52	± 1,49
n	8	8	8	10	8	10

Mit Hilfe der einfaktoriellen Varianzanalyse konnten zwischen den EIT-Minima der Eier mit toten Embryonen verschiedener Altersstufen signifikante Unterschiede ($p = 0,003$) festgestellt werden. Der Anschlußtest nach Tukey wies Differenzen zwischen den Altersstufen 20. BT und 14. BT bzw. zwischen den Altersstufen 20. BT und 17. BT aus, nicht aber zwischen den Altersstufen 14. BT und 17. BT.

Mit Hilfe der zweifaktoriellen Varianzanalyse konnte kein Einfluß der Altersstufe ($p = 0,198$), wohl aber des Status, lebende oder tote Embryonen, ($p = 0,0048$) nachgewiesen werden. Auch für die Wechselwirkung beider Faktoren war ein Einfluß auf die minimale EIT nach Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) nachweisbar ($p = 0,0013$).

C 4.4. Eiinnentemperatur während der Wiedererwärmung

Die EIT stieg während der Wiedererwärmung unter Inkubationsbedingungen (37,4 °C) in allen untersuchten Gruppen wieder an. Der Anstieg der EIT der Eier mit getöteten Embryonen zeigte, wie der Anstieg der Eier mit lebenden Embryonen, einen logarithmischen Verlauf.

In Abb. 24 wird der EIT-Verlauf von Eiern mit toten Embryonen der drei Altersstufen während der Wiedererwärmung gegenübergestellt.

Die Berechnung der Regressionsgleichungen für den Gruppendurchschnitt erfolgte mit Hilfe der Regressionsgleichungen einzelnen Eier:

$$t\ 14: y = 1,05416 \ln(x) + 30,3626 \quad \text{mit } R^2 \text{ von } 0,953 \text{ bis } 0,995$$

$$t\ 17: y = 0,92599 \ln(x) + 31,4109 \quad \text{mit } R^2 \text{ von } 0,934 \text{ bis } 0,994$$

$$t\ 20: y = 0,84229 \ln(x) + 32,1263 \quad \text{mit } R^2 \text{ von } 0,941 \text{ bis } 0,981$$

Die Eier mit den getöteten Embryonen der Altersstufe t14 wiesen den steilsten Anstieg der EIT auf. Insgesamt konnten jedoch zwischen den verschiedenen Altersstufen keine wesentlichen Unterschiede im Anstieg der EIT nachgewiesen werden.

C 4.5. Wiedererreichen des Eiinnentemperausgangsniveaus

Das Ausgangsniveau der EIT galt als wieder erreicht, wenn die momentanen Werte bei einer Meßfrequenz von 10 Sekunden 19mal hintereinander im Bereich des durchschnittlichen Ausgangswertes $\pm 0,2$ °C lagen. Die Begründung für diese Festlegungen entspricht der in Abschnitt C 2.5.

Bei Erfüllung dieser strengen Kriterien, enger Temperaturbereich und hohe Meßfrequenz über mehrere Minuten, konnte das dauerhafte Erreichen des Ausgangsniveaus angenommen werden.

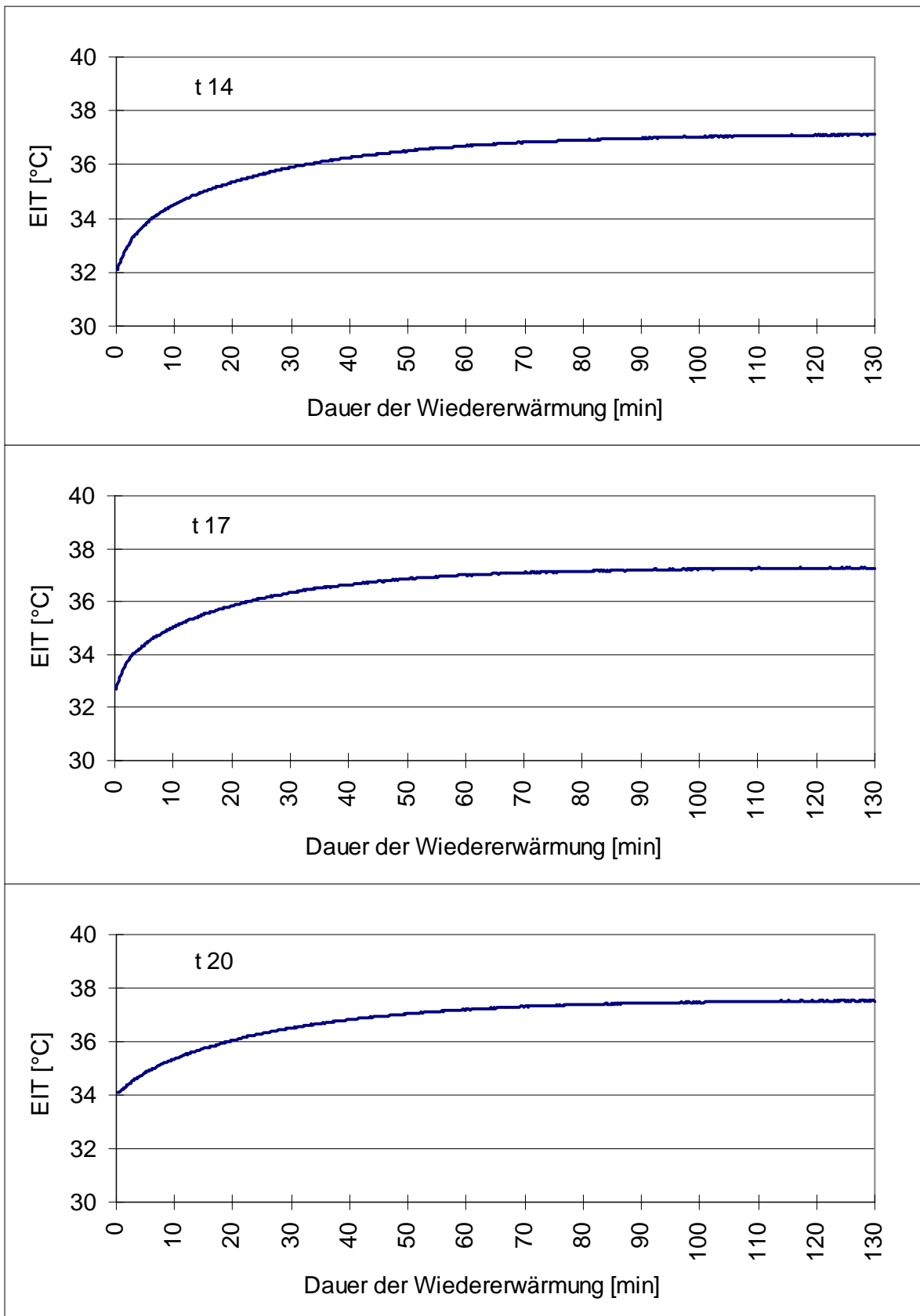


Abb. 24 : Durchschnittlicher EIT-Verlauf während der Wiedererwärmung unter Brutbedingungen (37,4 °C) nach vorangegangener 20minütiger Abkühlung bei Raumtemperatur (t14: n = 8, t17: n = 8, t20: n = 8).

Ergebnisse

Die EIT wurde während der Wiedererwärmung unter Brutbedingungen (37,4 °C) wenigstens 130 Minuten registriert.

Alle Eier (acht je Gruppe) erreichten ihr EIT-Ausgangsniveau innerhalb der Aufzeichnungsdauer wieder. Diese Tatsache war in sofern bemerkenswert, da dies nicht für alle Eier mit lebenden Embryonen zutraf.

In Tab. 22 wird die durchschnittliche Dauer bis zur Wiedererlangung des EIT-Ausgangsniveaus der einzelnen Versuchsgruppen angegeben. In wenigen Einzelfällen gab es erhebliche Abweichungen von diesen Durchschnittswerten.

Tab. 22: Durchschnittliche Dauer \bar{x} bis das EIT-Ausgangsniveau nach vorheriger 20minütiger Abkühlung erstmalig wiedererreicht wurde.

	t14	t17	t20
x ± s [min]	78 ± 13	66 ± 15	72 ± 13
min [min]	64	48	49
max [min]	105	90	87

In der Dauer bis zum Wiedererreichen des EIT-Ausgangsniveaus konnten keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,229$) zwischen den Eiern mit getöteten Embryonen verschiedener Altersstufen festgestellt werden.

Eine Zusammenstellung der Ausgangswerte, der Minima nach der jeweiligen Abkühlung sowie dem Wiedererreichen des Ausgangsniveaus der EIT aller untersuchten Eier mit getöteten Embryonen ist in Tab. 27 im Anhang ersichtlich.

C 5. Zusammenfassung der Ergebnisse

Sowohl die Ausgangswerte der HF als auch der EIT unterschieden sich zwischen den Altersstufen 14., 17. und 20. BT signifikant voneinander.

Auffällig war eine gestiegene Variabilität der HF am 20. BT bei gleichzeitig niedrigeren Werten im Vergleich zu den anderen Altersstufen.

Die EIT stieg mit zunehmendem Alter der Embryonen.

Während der Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) fielen die HF und die EIT in allen Altersstufen nahezu linear. Der prozentuale Abfall der HF und der EIT wurde signifikant durch das Alter und die Abkühlungsdauer beeinflusst.

Bei der Wiedererwärmung unter Inkubationsbedingungen (37,4 °C) zeigte sowohl die HF als auch die EIT in allen Altersstufen einen logarithmischen Verlauf.

Nicht alle Embryonen erreichten innerhalb der Aufzeichnungsdauer ihr HF- bzw. EIT-Ausgangsniveau wieder. Die Zeitspanne bis zur Wiedererlangung des Ausgangsniveaus wurde durch die Dauer der Abkühlung signifikant beeinflusst.

Die HF und die EIT zeigten während der Abkühlung und während der Wiedererwärmung in allen drei Altersstufen sehr hohe lineare Zusammenhänge. Die Minimalwerte nach der Abkühlung korrelierten nur mäßig miteinander.

Die EIT-Ausgangswerte der Eier mit toten Embryonen lagen signifikant unter den Werten vergleichbarer Eier mit lebenden Embryonen.

Das EIT-Minimum nach der Abkühlung wurde beim Vergleich der Eier mit toten Embryonen signifikant durch das Entwicklungsstadium der Embryonen beeinflusst.

Beim Vergleich von Eiern mit toten bzw. lebenden Embryonen beeinflusste der Status, toter oder lebender Embryo, das EIT-Minimum nach der Abkühlung.

Während der Wiedererwärmung unter Inkubationsbedingungen (37,4 °C) stieg die EIT logarithmisch an und erreichte in jedem Fall das Ausgangsniveau wieder.

D Diskussion

D 1. Diskussion der Ausgangswerte und der Methoden

Im folgenden Abschnitt werden die Ausgangswerte der Herzfrequenz und der Eiinnentemperatur und in diesem Zusammenhang die Methoden zur Parametererfassung diskutiert.

Dabei wird bewußt der Begriff Ausgangswert statt Ruhewert verwendet. Ruhewerte setzen eine Nichtbeeinflussung voraus. Trotz aller Bemühungen, externe Störfaktoren zu minimieren, bleiben einige Einflüsse (Geräusche im Labor durch andere Arbeitsprozesse, Türklappen im Hause) unvermeidlich. Da diese Einflüsse auf alle Untersuchungsgruppen gleichermaßen wirkten, sind sie im Sinne eines systematischen Fehlers zu vernachlässigen. Ferner wurden zur HF-Erfassung semiinvasive und zur EIT-Erfassung invasive Methoden angewendet. Da alle Untersuchungen unter gleichen Ausgangsbedingungen stattfanden, ist der Begriff Ausgangswert gerechtfertigt.

D 1.1. Herzfrequenz

Zur Erfassung der HF wurde die von Dörner et al. (1995) entwickelte semiinvasive Methode der EKG-Ableitung genutzt. Nach dem Wegfräsen der Kalkschale an zwei sich diagonal gegenüberliegenden Arealen des Eies wurde das elektrische Signal mit Silber-Silberchlorid-Auflageelektroden abgeleitet. Aus den visuell ausgezählten R-Zacken pro Zeiteinheit konnte die HF berechnet werden.

Wenn sich mit dieser Methode auch in allen untersuchten Entwicklungsstadien und über längere Zeit EKG aufzeichnen ließen, traten doch Unterschiede in der Signalqualität auf. Am 14. BT wiesen die R-Zacken nur eine geringe Amplitude auf. Die Ursachen dafür sind in dem noch nicht voll ausgereiften Erregungsbildungs- und -leitungssystem sowie in der Lage des Embryos im Ei (noch quer zur Eilängsachse) zu suchen. Die EKG-Ableitungen der Embryonen

des 17. BT zeigten die beste Qualität: die Amplitude der R-Zacken stieg deutlich an. Begünstigend war außerdem die Position des Embryos zu diesem Zeitpunkt entlang der Eilängsachse. Am 20. BT traten gelegentlich Störungen in der EKG-Ableitung durch Eigenbewegungen des Embryos auf.

Unter den gegebenen Bedingungen (Abschnitt B 1.) wurden für Hühnerembryonen folgende durchschnittliche HF-Ausgangswerte ermittelt

14. BT	$249 \pm 8,4 \text{ min}^{-1}$
17. BT	$254 \pm 9,1 \text{ min}^{-1}$
20. BT	$240,9 \pm 11,4 \text{ min}^{-1}$

Wie schon im Abschnitt A 2.3. erwähnt, gibt es erhebliche Unterschiede in den Angaben zu den HF-Ausgangswerten, die durch Alter, Rasse, Versuchsbedingungen, Meß- und Auswertungsmethoden verursacht werden können (Francis, 1962; Freeman & Vince, 1974). Es bleibt jedoch festzustellen, daß die in eigenen Untersuchungen gewonnenen HF-Ausgangswerte im Schwankungsbereich der Literaturangaben (Tab. 23) liegen.

Ein allmählicher Anstieg der HF vom 14. BT zum 17. BT und der anschließende Abfall mit signifikant niedrigeren HF-Werten am 20. BT (Tab. 7) ist charakteristisch für die Entwicklung der HF der precocialen Hühnerembryonen. Im Gegensatz zur Entwicklung des Blutdruckes, der parallel zum Embryonenwachstum ansteigt, entwickelt sich die HF nicht linear zur Embryonenmasse. Die embryonale HF erreicht um den 16. bis 18. BT ihr Maximum (Tazawa et al., 1997). Die gestiegene Herzmasse und das erhöhte Schlagvolumen gestatten eine Abnahme der HF (Freeman & Vince, 1974). Dörner et al. (1995) stellten nach Berechnung der Trendfunktion fest, daß die HF vom 17. BT zum 18. BT um 10 Schläge / 24 Stunden sinkt.

Tab. 23: HF-Werte von Hühnerembryonen

Alter [BT]	HF [min⁻¹]	Autoren
14	200	Girard (1973)
14	210	Romanow & Sochen (1929)
14	264	Ono et al. (1994)
14	271	Tazawa & Nakagawa (1985)
14	272	Soliman & Huston (1972)
17	212	Romanow & Sochen (1929)
17	216	Girard (1973)
17	270	Tazawa & Nakagawa (1985)
17	273	Soliman & Huston (1972)
17	280	Tazawa et al. (1997)
20	300	Ono et al. (1994)
20	221	Girard (1973)
20	324	Soliman & Huston (1972)

Charakteristisch ist auch die gestiegene Variabilität der HF bei absolut niedrigeren Werten am 20. BT (Tab. 7). Als leicht beeinflussbare physiologische Größe wird sie durch die Interaktion verschiedener Kontrollsysteme (z.B. vegetatives Nervensystem, endokrinologisches System) reguliert. Beim adulten Tier und beim ausgewachsenen Menschen ist eine fehlende HF-Variabilität ein Zeichen für pathologische Verhältnisse (Fleisher et al., 1996). Bei dem precocialen Vogelembryo wird die Zunahme der HF-Variabilität zum Ende der Inkubation durch die sich entwickelnden neuronale und hormonale Beeinflussung, die einsetzende Lungenatmung sowie die verstärkt auftretende motorische Aktivität verursacht.

D 1.2. Eiinnentemperatur

Um das Reaktionsvermögen des Embryos auf thermische Schwankungen korrekt einschätzen zu können, ist die Erfassung der Embryonentemperatur bzw. der den Embryo direkt umgebenden Temperatur von größter Bedeutung. Dabei ist es wichtig, die Temperatur so genau wie möglich zu messen und den Embryo so wenig wie möglich zu beeinflussen.

Die Temperaturmessung auf der Schalenoberfläche oder direkt unter der Kalkschale muß als zu ungenau abgelehnt werden. Die Möglichkeit der Temperaturmessung direkt im Embryo erfüllt nicht die Zielstellung, den Embryo so wenig wie möglich zu beeinflussen. Zudem bleibt die von Holland et al. (1997) entwickelte Methode der Colontemperaturmessung beim Vogelembryo aus methodischen Gründen späteren Entwicklungsstadien vorbehalten. Erst mit der beginnenden Lungenatmung des Embryos und der damit einhergehenden Rückbildung des Blutgefäßsystems der Chorioallantois ist das Risiko der Blutung auf ein vertretbar geringes Maß gesunken. Aus diesem Grund wurde auch die Variante der Messung der Embryonentemperatur verworfen und eine Methode zur Temperaturmessung nahe am Hühnerembryo entwickelt (Kalweit & Burmeister, 1995; Abschnitt B 2.).

Der Zugang des Thermomeßfühlers vom spitzen Pol aus bietet gegenüber anderen Plazierungsmöglichkeiten den Vorteil, daß beim Schieren relativ deutlich der Embryo und die Blutgefäße erkennbar sind. Die Blutungsgefahr und das Verletzungsrisiko sind minimal.

Nach der Meßfühlerplazierung ist bis zum Erreichen einer konstanten EIT bei gleichbleibender UT auch nach nur kurzem Handling (höchstens eine Minute) eine mindestens zweistündige Adaptationszeit erforderlich. Ein längeres Handling, z.B. durch Einsetzen des Eies in eine Stoffwechsel-(SW-)kammer, dehnt die Zeit der Anpassung auf drei bis vier Stunden aus. Zwar beeinflußt die Handlungsdauer das Ausmaß des Temperaturabfalls im Ei, trotzdem kann dies nicht allein die relativ lange Adaptationszeit verursachen. Es ist davon auszugehen, daß das Einführen des Thermomeßfühlers in das Eiinnere eine Manipulation mit kurzfristig doch massiven Auswirkungen auf die physiologischen Parameter des Embryos darstellt.

Nach einer Adaptation des Embryos können reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden. Langfristig ist diese Methode der Meßfühlerplatzierung so schonend durchführbar, daß selbst nach mehrtägiger, kontinuierlicher Meßfühlerplatzierung normal entwickelte und vitale Küken schlüpfen.

Beim Schieren entstehen Schatten unterschiedlich lichtdichten Gewebes, feinere Strukturen wie Amnion und Allantois sind nicht zu unterscheiden. Darum fand der Begriff EIT statt Allantoisflüssigkeitstemperatur Verwendung.

Unter den gegebenen Bedingungen (Abschnitt B 1.) wurden für Hühnerembryonen folgende durchschnittliche EIT-Ausgangswerte ermittelt

14. BT	37,61 ± 0,18 °C
17. BT	37,94 ± 0,16 °C
20. BT	38,01 ± 0,21 °C

Diese Werte liegen am 14. und 17. BT in vergleichbaren Bereichen, am 20. BT unter den in der Literatur angegebenen EIT-Werten (Tab. 24).

Tab. 24: EIT-Werte von Hühnerembryonen

Alter [BT]	UT [°C]	EIT [°C]	EIT-UT [°C]	Autoren
14	37,4	37,6 ± 0,2	0,2 ± 0,2	eigene Werte
14	38,0		0,6 ± 0,3	Tazawa & Nakagawa (1985)
14	38,0	38,3 ± 0,1		Ono et al. (1994)
17	37,4	37,9 ± 0,2	0,5 ± 0,2	eigene Werte
17	38,0		1,0 ± 0,2	Tazawa & Nakagawa (1985)
20	37,4	38,01 ± 0,2	0,6 ± 0,2	eigene Werte
20	38,0		1,5 ± 0,3	Tazawa & Nakagawa (1985)
20	38,0	39,7 ± 0,3		Ono et al. (1994)

Diese Differenz ist mit Sicherheit nicht auf die entwickelte Methode der Temperaturmessung nahe am Embryo zurückzuführen. Vergleichsuntersuchungen mit der selben Temperaturerfassungsmethode in der Arbeitsgruppe *Perinatale Anpassung* im Institut für Biologie der Humboldt - Universität zu Berlin zeigten am 20. BT höhere EIT (Burmeister, 1996, persönliche Mitteilung). Einflüsse durch Lagerungsdauer der Eier zwischen Ablage durch die Henne und Bebrütungsbeginn, Rasse oder Abkühlung in der frühen Embryogenese durch Transport der Eier zwischen verschiedenen Brütern konnten nicht nachgewiesen werden (Tab. 28).

Die niedrigeren EIT-Werte sind sicher auf die durch Ventilation erhöhte Luftzirkulation in dem verwendeten Flächenbrüter *Bismark-Brüter V80* der Firma *BITEC GmbH Bismark* zurückzuführen. Bei einer Strömungsgeschwindigkeit der Luft von 1,0 bis 1,5 m/s ist ein leichter Windzug bemerkbar. Durch diese Ventilation wird die Grenzschicht um die einzelnen Eier herum zerstört.

Die Grenzschicht ist bei stiller Luft eine um ein festes Objekt geschlossene diffuse Luftschicht, die mit zunehmender Größe des Objektes wächst. Bei steigender Windgeschwindigkeit nimmt sie ab.

Während für den Masseflux zwischen Ei und Umgebung die Kalkschale das größte Hindernis darstellt, ist für den Wärmeaustausch die Grenzschicht die größte Barriere (Sotheland et al., 1987). Die Grenzschicht weist eine geringere Konvektion als die Kalkschale auf (Sotheland et al., 1987; Turner, 1985). Sie erhöht sich jedoch mit zunehmender Windgeschwindigkeit. So steigt die Konvektion bei Windstille auf ca. das Doppelte derjenigen bei Luftbewegung von 1 m/s an. Ein weiteres Mal verdoppelt sich die Konvektion bei der Erhöhung der Windgeschwindigkeit von 1 m/s auf 4 m/s (Sotheland et al., 1987).

Bei dem in eigenen Untersuchungen verwendeten Flächenbrüter verstärkt die Ventilation die physikalische Zirkulation der Luft. Infolgedessen ist die Grenzschicht schmaler und ihre isolierende Funktion geringer als in Wassermantelinkubatoren mit Schwerkraftprinzip. Durch den erhöhten konvektiven Transport geben die Eier im Flächenbrüter mit Ventilator mehr Wärme an ihre unmittelbare Umgebung ab, die anderenfalls zur Erhöhung der EIT beitragen könnte.

Ob der SW und die damit verbundene Wärmeproduktion (WP) im Vergleich zu Eiern, die in Bebrütern mit Schwerkraftprinzip inkubiert wurden, sekundär geringer ausfallen, bleibt durch SW-messungen zu klären. In Hinsicht auf thermische Fragestellungen und auf Vergleichbarkeit mit Daten anderer Autoren ergeben sich aus den eigenen Untersuchungen zwei Erkenntnisse:

Für zukünftige Untersuchungen ist die Bebrütung in Wassermantelinkubatoren mit Schwerkraftprinzip zu empfehlen. Möglich ist auch die Sicherung der Eier vor konvektivem Wärmeverlust durch Umbauung.

Wenn auch für die natürliche Bebrütung eine optimale Inkubationstemperatur von $37,5 \pm 0,5$ °C angegeben wird (Brown, 1988), sollte sie bei thermischen Untersuchungen in sehr engen Grenzen gehalten und zu Gunsten einer besseren Vergleichbarkeit mit Ergebnissen anderer Autoren um 38,0 °C betragen.

Der signifikante Anstieg der EIT mit zunehmenden Alter der Embryonen (Tab. 11) ist durch den steigenden SW und der damit verbundenen zunehmenden WP (Tazawa & Nakagawa, 1985; Ono et al., 1994) sowie durch eine effektive Wärmeverteilung durch den Kreislauf (Turner, 1990) zu erklären.

D 2. Herzfrequenz und Eiinnentemperatur während der Abkühlung

D 2.1. Herzfrequenz während der Abkühlung

Die HF ist extrem temperaturempfindlich. Es ist bekannt, daß der Schrittmacher des Herzens sehr empfindlich auf Temperaturveränderungen entsprechend der van't Hoff'schen RGT-Regel reagiert (Pirow, 1995). Bei niedriger UT fällt die HF (Romanoff, 1960; Girard, 1973; Tazawa & Nakagawa, 1985; Tazawa & Rahn, 1986).

Chen & DeHaan (1993) wiesen eine Temperaturabhängigkeit des Leitungsvermögens und der spannungsabhängigen Kinetik der gap-junctions zwischen den Ventrikelmyocyten von Hühnerembryonen des 7. BT nach.

Die Temperaturempfindlichkeit der HF läßt jedoch mit steigendem Alter nach (Romanoff & Sochen, 1929; Romanoff, 1960). Während am 3. BT die Reaktion des Kreislaufs streng von der UT abhängt, konnte Girard (1973) bereits am 7. BT eine begrenzte HF-Senkung und eine Blutdruckerhöhung bei Abkühlung nachweisen und interpretierte diese Tatsache als Trend zur Homoiothermie. Bei jüngeren Embryonen fällt die HF schneller als bei älteren Embryonen unter gleichen Abkühlungsbedingungen ab. Die Widerstandsfähigkeit der Herzfunktion gegen länger andauernde niedrigere UT entsteht um den 17. bis 18. BT (Tazawa & Nakagawa, 1985).

In den eigenen Untersuchungen fiel die HF während der Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) in allen drei untersuchten Altersstufen nahezu linear (Abb. 6). Die Embryonen des 17. BT erfuhren die Bradycardie in einem signifikant größerem Ausmaß als die Embryonen des 14. und 20. BT, die sich hinsichtlich des prozentualen HF-Abfalls nicht wesentlich voneinander unterschieden.

In Abb. 6 fällt eine anfängliche Tachycardie der Embryonen des 20. BT auf, die als Reaktion des Herz-Kreislauf-Systems auf veränderte Bedingungen interpretierbar ist. Weiterhin ist deutlich erkennbar, daß die Embryonen des 20. BT die geringsten Ausgangswerte und die höchsten HF-Minimalwerte nach 25minütiger Abkühlung aufweisen. Ein geringer prozentualer Abfall der HF bei gleichen Abkühlungsbedingungen spricht für die sich entwickelnde Fähigkeit des embryonalen Herz-Kreislauf-Systems zur regulatorischen Aktivität. Holland et al. (1997) wiesen bei älteren Embryonen einen erhöhten Blutfluß in der Chorioallantoismembran während der Erwärmung nach, wodurch ein Ansteigen der Körpertemperatur verhindert oder zumindest verzögert werden konnte.

D 2.2. Eiinnentemperatur während der Abkühlung

Die EIT wies während der Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) in allen drei untersuchten Altersstufen einen wenig ausgeprägten exponentiellen Verlauf auf (Abb. 12). Die Anpassungen der exponentiellen Regressionskurven unterschieden sich von den Anpassungen der linearen Regressionskurven um höchstens 0,57 %.

Nach dem Newton'schen Abkühlungsgesetz ist der zeitliche Temperaturverlauf eines Körpers, der durch einen Luftstrom konstanter Temperatur abgekühlt wird, durch einen exponentiellen Trend gekennzeichnet.

Das Newton'sche Abkühlungsgesetz entspricht der Gleichung

$$T - T_U = (T_0 - T_U) \exp (a - t)$$

mit T als Temperatur nach Ablauf der Zeit t , T_U als konstante Umgebungstemperatur, T_0 als Anfangstemperatur und a als spezifischer Abkühlungsfaktor.

Tazawa & Nakagawa (1985) konnten einen solchen Temperaturverlauf während einer dreistündigen Abkühlung embryonierter Hühnereier bei 26 °C zeigen.

Der exponentielle Temperaturverlauf war in den eigenen Untersuchungen hingegen nur sehr undeutlich ausgebildet. Dies ist eindeutig auf die kurze Abkühlungsdauer von maximal 25 Minuten zurückzuführen. Die eigenen Temperaturlaufzeichnungen entsprechen dem ersten, steil abfallenden Abschnitt der theoretischen Temperaturverlaufskurve.

Die Eier mit Embryonen des 17. BT verzeichneten den größten prozentualen Abfall der EIT, während sich die prozentuale EIT-Abnahme zwischen den Eiern mit Embryonen des 14. BT bzw. 20. BT nicht wesentlich voneinander unterschied. Als Ursache für diese Differenzen kommen strukturelle Aspekte und altersabhängige Reaktionsmöglichkeiten des Embryos in Betracht.

Unter den extraembryonalen Strukturen muß vor allem die Allantois beachtet werden. Sie erreicht am 13. BT ihr maximales Volumen und nimmt anschließend rapide ab. Der Embryo resorbiert die extraembryonale Flüssigkeit, bis am 19. BT praktisch nichts mehr davon existiert (Romanoff, 1960; Freeman & Vince, 1974). Tab. 25 weist die durchschnittlichen Gewichte der Gesamteier und der Embryonen sowie die berechneten Restmenge aller extraembryonalen Strukturen aus. Es wird das exponentielle Wachstum des Embryos und die Abnahme der ihn umgebenden Strukturen deutlich.

Tab. 25: *Gewichtsentwicklung des Embryos und extraembryonaler Strukturen*

	14. BT	17. BT	20. BT
n	39	44	47
Gesamtei [g]	54,81 ± 7,53	55,54 ± 5,64	55,95 ± 5,14
Embryo [g]	6,47 ± 0,74	15,45 ± 1,26	26,23 ± 2,99
extraembryonale Restmenge [g]	48,33 ± 7,06	40,09 ± 5,49	29,72 ± 5,3

Somit ist der Embryo des 14. BT noch von extraembryonaler Flüssigkeit umgeben, die u.a. eine thermische Pufferfunktion erfüllt. Diesen Schutz kann der Embryo des 17. BT nicht in diesem Maße genießen. Er erfährt einen Wechsel der UT intensiver, das Ei kühlt schneller aus.

Demzufolge müßte eine veränderte UT den Embryo des 20. BT noch intensiver beeinflussen als den Embryo des 17. BT. Doch weder die HF, noch die EIT sinken prozentual weiter als bei Embryonen der Altersstufe 17. BT.

Die Blutzirkulation macht einen kleinen, aber signifikanten Beitrag in der thermalen Konvektion des Hühnereies aus (Tazawa et al., 1988A). In der Chorioallantois steigt sie mit zunehmendem Alter des Embryos an (Tazawa & MUCHIZUKI, 1976). Da der Allantoisblutfluß gegenüber kälterer UT relativ unempfindlich ist (Tazawa et al., 1985), nimmt die Durchblutung der Chorioallantois nicht ab. Die Kälte wird uneingeschränkt aus der kalkschalen-nahen Eiperipherie in das Eizentrum und zum Embryo transportiert. Gleichzeitig gelangt so auch Wärme vom Eizentrum in die Peripherie des Eies und trägt erheblich zum Wärmeverlust bei (Kalweit, 1997).

Mit der sich entwickelnden Lungenatmung beginnt sich der extraembryonale Kreislauf ab dem 18. BT zurückzubilden. Der Embryo des 20. BT weist zwar keine thermisch puffernde Schichten zwischen sich und der inneren Schalenmembran auf, hat aber auch keinen extraembryonalen Kreislauf, der erheblich zum Wärmeverlust beitragen könnte.

Ein weiterer Vorteil des älteren Embryos gegenüber einem jüngeren ist das veränderte Verhältnis von Volumen und Oberfläche (Bernstein 1973). Der

größere Embryo hat eine relativ kleinere Oberfläche, über die er Wärme verlieren kann. Aus diesem Grund braucht er zur Aufrechterhaltung der KT nicht so viel Wärme produzieren wie kleinere Embryonen unter gleichen Bedingungen.

Neben den strukturellen Unterschieden weisen ältere Embryonen ein umfangreicheres Potential SW-aktiver Hormone als jüngere Embryonen auf. Die mit wachsender SW-leistung verbundene WP verursacht die mit dem Alter des Embryonen steigende EIT und könnte neben der essentiellen und obligatorischen WP eine regulative WP ermöglichen (Abschnitt A 3.4.). Der schon fast schlupffreie Embryo des 20. BT hat Mechanismen entwickelt, die der TR dienen. Daß diese noch nicht im Sinne der Homoiothermie funktionstüchtig sind, ist verständlich. Jedoch tragen sie bei geringgradiger Abkühlung zum Erhalt bzw. zum verzögerten und weniger steilen Abfall der KT bei.

Für weitere thermoregulatorische Untersuchungen ist neben der Messung der EIT die Einbeziehung hormoneller und SW- Parameter empfehlenswert.

Die EIT wird durch externe und interne Faktoren (Bruttemperatur, konvektiver Wärmeverlust, Strukturentwicklung und Funktionsreifung embryonaler Systeme, steigende SW-leistung und vermehrte WP) beeinflusst.

Durch eine zu große Temperaturdifferenz zwischen Ei und Umgebung kann das Ei und der Embryo eine enorme Wärmemenge verlieren. Durch eine herabgesetzte Geschwindigkeit enzymatischer Reaktionen ist der SW sekundär langsamer und die WP geringer. So kann eine zu intensive Abkühlung des Eies bzw. des Embryos eine beginnende endotherme Reaktionsform maskieren. Um mögliche regulative Reaktionsformen des Embryos auf veränderte UT zu erkennen, ist deshalb eine geringfügige und nur schrittweise Abkühlung wie im „gradual cooling test“ von Tazawa et al. (1988B) vorteilhaft.

Die aus der Fragestellung nach Handlungsauswirkungen gewählte UT von 21 °C ist für die Untersuchung der thermoregulatorischen Problematik zu gering, die Temperaturdifferenz zwischen Ei und Umgebung zu groß.

Aus der Literatur und den eigenen Ergebnissen ist daher abzuleiten, daß eine Temperaturdifferenz von nur 2 °C bis maximal 5 °C völlig ausreichend wäre.

D 3. Korrelation zwischen Herzfrequenz und Eiinnentemperatur

Für die Ausgangswerte der HF und EIT wurden Pearson-Korrelationskoeffizienten von 0,07 bis 0,33 ermittelt (Tab. 15). Somit besteht kein linearer Zusammenhang zwischen den beiden Parametern, der es gestattet, unter Ausgangsbedingungen von einer Größe auf die andere zu schließen. Für die Beziehung der HF- und EIT-Minimalwerte nach der Abkühlung (Tab. 17) betragen die Pearson-Korrelationskoeffizienten in den Altersstufen 14. BT und 17. BT 0,60 und 0,64. Auch in diesen Fällen ist von keinem engen Zusammenhang auszugehen. In der Altersstufe 20. BT konnte für die Beziehung zwischen den Minimalwerten der HF und EIT ein Pearson-Korrelationskoeffizient von 0,89 ermittelt werden, der wiederum einen hohen linearen Zusammenhang verdeutlicht und Rückschlüsse von einem Parameter auf den anderen rechtfertigt.

Während der Abkühlung bei Raumtemperatur (21 °C) konnte zwischen den beiden Parametern HF und EIT ein hoher linearer Zusammenhang ermittelt werden. Der Pearson-Korrelationskoeffizient betrug für gesamte Gruppen 0,83 bis 0,88. Bei der Betrachtung dieses Zusammenhanges für einzelne Eier stieg der Pearson-Korrelationskoeffizient im Durchschnitt sogar auf über 0,9 an (Tab. 16).

Ein ähnlich hoher Zusammenhang besteht zwischen der HF und der EIT während der Wiedererwärmung (Tab. 18) unter Inkubationsbedingungen (37,4 °C).

Der enge Zusammenhang zwischen HF und EIT während der Abkühlung bzw. der Wiedererwärmung gestattet es, innerhalb des gewählten Zeitraumes und mit dem durchgeführten Handling von der HF auf die EIT oder umgekehrt zuzuschließen.

Auf diese Weise ist der Arbeitsaufwand während der Versuchsdurchführung reduzierbar, indem auf die Erfassung eines Parameters verzichtet oder die Erfassungsfrequenz gesenkt werden kann.

D 4. Vergleich von Eiern mit toten bzw. lebenden Eiern

Ein abweichendes Verhalten von der nach dem Newton'schen Abkühlungsgesetz theoretisch berechneten (Tazawa & Nakagawa, 1985) oder der mit getöteten Embryonen gewonnenen EIT-Abkühlungskurve (eigene Untersuchungen) kennzeichnet die Bestrebungen, die EIT bzw. die Embryonentemperatur gegen wechselnde Temperatureinflüsse aufrechtzuerhalten. Dies wäre ein Zeichen für eine beginnende endotherme Reaktionsform des Hühnerembryos.

Grundlegend unterscheiden sich Eier mit lebenden Embryonen von Eiern mit getöteten Embryonen durch die metabolische WP und die Blutzirkulation.

Während mit der Blutzirkulation als Wärmeverteiler die Möglichkeit des Wärmeverlusts an die Umgebung steigt, wirken die WP und die extraembryonalen Flüssigkeiten als Thermopuffer den Einflüssen kälterer UT entgegen.

Da mit zunehmendem Alter der Embryonen der SW und die damit verbundene WP steigen, ist davon auszugehen, daß die zeitlichen EIT-Verlaufskurven bei Abkühlung zwischen Eiern mit toten bzw. lebenden Embryonen bei älteren Entwicklungsstadien weiter divergieren. In Untersuchungen von Tazawa & Nakagawa (1985), in denen Embryonen des 13. BT und 17. BT für 3 Stunden bei 26°C bzw. 27°C abgekühlt wurden, weicht die Abkühlungskurve älterer Embryonen deutlicher von der theoretisch berechneten ab als die jüngerer Embryonen.

Auch in den eigenen Versuchen unterscheiden sich die EIT-Kurven der Eier mit lebenden Embryonen von denen mit toten Embryonen in allen untersuchten Altersgruppen (Abb. 22 und Abb. 23). Die EIT-Kurven der Altersstufe 14. BT divergieren mit zunehmender Abkühlungsdauer. Dieser Trend ist in der Altersstufe 17. BT nur anfänglich erkennbar. In der Altersstufe 20. BT verlaufen die EIT-Kurven innerhalb eines Schwankungsbereiches nahezu parallel. Eine mit zunehmendem Alter der Embryonen wachsende Abweichung vom Verhalten der theoretisch berechneten bzw. mit toten Embryonen gewonnenen EIT-Kurven konnte in eigenen Untersuchungen nicht bestätigt werden. Diese Tatsache ist abermals auf die zu große Temperaturdifferenz zwischen Ei und Umgebung von 16,4 °C zurückzuführen.

Bei der relativ kurzfristigen Abkühlung kommt die isolierende Funktion der extraembryonalen Flüssigkeit noch zum Tragen. Dieser Thermopuffer wird, wie schon in Abschnitt D 2.2. erläutert, resorbiert und wirkt in späteren Entwicklungsstufen weniger als in jüngeren.

Ein anderer Aspekt ist die Abkühlungsdauer von maximal 25 Minuten. Ein ähnlicher EIT-Verlauf von Eiern mit älteren lebenden Embryonen und Eiern mit toten Embryonen während der Abkühlung weist darauf hin, daß durch einen 25minütigen Temperatureinfluß von 21 °C beim Embryo keine regulatorische Antwort entwickelt wird. Diese Zeitspanne scheint nicht auszureichen, Mechanismen zu aktivieren und die WP effektiv zu steigern. Ein entscheidender Unterschied zwischen Eiern mit lebenden bzw. getöteten Embryonen, der SW und die metabolische WP, ist damit praktisch ohne Bedeutung.

Aus energetischen Aspekten ist es für den Vogelembryo sinnvoll, sich bei einer kurzzeitigen Abkühlung der UT anzupassen. Eine Aufrechterhaltung der KT verlangt einen erhöhten Energieverbrauch. Für die Entwicklung und Reifung des Embryos steht jedoch nur ein begrenztes Energie- und Nährstoffreservoir zur Verfügung, aus dem zusätzlich die Energie für den Schlupfprozeß geschöpft werden muß. Energieaufwendungen, die während eines physiologischen Brutablaufs nicht notwendig sind, können den begrenzten Vorrat metabolischer Stoffe belasten und letztlich tödliche Folgen nach sich ziehen.

Die Entwicklung thermoregulatorischer Mechanismen während der Embryogenese ist für den precocialen Jungvogel von herausragender Bedeutung. Eine voll funktionsfähige Endothermie ist für den Embryo unter physiologischen Bedingungen jedoch nicht notwendig (kontinuierliche Wärmezufuhr durch den Brutvogel oder Inkubator) und nicht sinnvoll (begrenzte Energie- und Nährstoffreserven).

E Zusammenfassung

Als Beitrag zum Projekt „Genese der Endothermie beim Vogelembryo“ (DFG Tö 181-1) wurde der **Einfluß einer kurzzeitigen Hypothermie auf die Herzfrequenz und die Eiinnentemperatur von Hühnerembryonen unterschiedlichen Alters** untersucht. Es sollten die Auswirkungen von Manipulationen am Embryo außerhalb des Brutschranks geprüft werden.

Als Maßstab dienten die physiologischen Parameter Herzfrequenz (HF) und Eiinnentemperatur (EIT). Da die Temperaturregulation u.a. an kardiovaskuläre Voraussetzungen gebunden ist, eignet sich die HF als empfindlich reagierender und leicht bestimmbarer Parameter zur Beurteilung des Reaktionsvermögens des Embryos. Die EIT widerspiegelt die Einflüsse sowohl der Umgebungstemperatur als auch der Wärmeproduktion seitens des Embryos und ist somit zur Gesamtschätzung der Reaktion auf thermische Reize geeignet.

Zur Erfassung der HF wurde eine semiinvasive Methode der EKG-Aufzeichnung eingesetzt. Um die EIT registrieren zu können, wurde eine invasive Methode entwickelt, mit der die Temperatur nahe am Embryo über längere Zeit erfaßt werden kann, ohne den Embryo wesentlich zu beeinflussen.

Es wurde das Verhalten der HF und der EIT von Hühnerembryonen des 14., 17. und 20. Bebrütungstages während der Abkühlung bei einer Raumtemperatur (21 °C) über 5 bis 25 Minuten untersucht. Ein Vergleich zwischen Eiern mit lebenden Embryonen und Eiern mit getöteten Embryonen unterstrich den Einfluß des Kreislaufs und des Stoffwechsels auf die EIT.

Der nahezu lineare Abfall der HF und der EIT während der Abkühlung war von der Dauer und dem Alter der Embryonen abhängig.

Während der Wiedererwärmung unter Inkubationsbedingungen (37,4 °C) stiegen sowohl die HF als auch die EIT logarithmisch an. Während einer zweistündigen

Wiedererwärmung erreichten 86 % der untersuchten Embryonen ihr HF- und 64 % ihr EIT - Ausgangsniveau wieder. Daraus ist abzuleiten, daß die Adaptationszeit für Embryonen nach dem Handling mindestens zwei, besser vier Stunden betragen sollte.

Die hohe lineare Korrelation zwischen HF und EIT während der Abkühlung und während der Wiedererwärmung in allen drei Altersstufen gestattet Rückschlüsse von einem Parameter auf den anderen und ermöglicht die Verringerung des Erfassungsaufwandes in zukünftigen Versuchen.

Summary

The effect of a short term hypothermia on the heart rate and the inner egg temperature of chick embryos of different ages

As a contribution to the project „Development of endothermy of avian embryo“ (DFG Tö 181-1) **the effect of a short term hypothermia on the heart rate and the inner egg temperature of chick embryos of different ages** was examined. The purposes was to verify the effect of manipulations on the embryo outside of the incubator.

The physiological parameters of the heart rate (HR) and inner egg temperatur (IET) served as measurements. As the temperature regulation, among others, is dependent upon cardiovascular conditions, the HR was capable of being a sensitively reacting and easily measurable parameter to determine the reactionary ability of the embryo. The IET reflects the influence of the ambient temperature as well as the influence of the heat production on the embryo. It is thereby well suited to a complete estimation of the response to thermal stimulation.

To detect the HR, a semiinvasive method of the electrocardiogram charting was used. In order to measure the IET, an invasive method was developed, with which the temperature near the embryo could be measured over a long time, without substantially influencing the embryo.

The response of the HR and the IET of chick embryos at the 14th, 17th and 20th day of incubation during the cooling of the room temperature (21 °C) from 5 to 25 minutes was examined. A comparison between egg with live embryos and egg with dead embryos underlines the influence of blood circulation and metabolism on the IET.

The resulting decline of the HR and IET during the cooling of the room temperature was dependent on the duration and the age of the embryos.

During the rewarming under incubation conditions (37,4 °C), the HR and IET rose logarithmic. During a two hour rewarming, 86% of the examined embryos reached their original HR level and 64% reached their initial IET again. It can therefore be concluded that the adaptation time for embryos after treatment should be least two, if not four hours.

The high linear correlation between HR and IET during the cooling and during the rewarming in all three age stage permit the conclusion from one parameter to the others and makes it possible to narrow the scope of future experiments.

F **Quellennachweis**

Akester, A.R. (1984):

The cardiovascular system.

In: Freeman, B.M. (ed.): Physiology and Biochemistry of Domestic Fowl.
Academic Press, London, Vol. V, 172-262

Auli, A., Grav, H.J. (1979):

Effect of cold acclimation on the oxidative capacity of skeletal muscles and
liver in young bantam chicks.

Comp. Biochem. Physiol. 62A, 335-338

Aulin, A., Moen, P. (1975):

Metabolic Thermoregulatory Response in Eggs and Chicks of Willow
Ptarmigan.

Comp. Biochem. Physiol., 51A, 605-609

Bernstein, M.H. (1973):

Development of thermoregulation in painted quail *Excalfactoria chinensis*.

Comp. Biochem. Physiol., 44 A., 355-366

Blanck, A. (1992):

Einfluß der Bruttemperatur auf die Determinierung des
Temperaturregulationssystems von Puten (*Meleagris galopavo*).

Diplomarbeit, Institut für Verhaltensbiologie und Zoologie der Humboldt -
Universität zu Berlin

Bogue, J.Y., (1932):

The heart rate of the developing chick.

J. Exp. Biol. 9, 351-358

Brown, A. F. A. (1988):

Kunstbrut - Handbuch für Züchter

Schaper Verlag, Hannover

- Burmeister, A., Nichelmann, M., Jurkschat, M. (1988):
Zur Ontogenese der Temperaturregulation bei Putenküken *Meleagris gallopavo*.
Biol. Rundsch., 26, 105-107
- Burmeister, A., Holland, S., Höchel, J., Janke, O., Nichelmann, M. (1997):
Colonic Temperature and Temperature of the Allantoic Fluid in Chicken Embryos: Comparison, the Pros and Cons.
In: Tönhardt, H., Lewin, R. (eds.) 3rd workshop: Investigation of perinatal development of birds, Freie Universität Berlin: 241-249
- Cain, C.J., Abbott, U.,K., Rogallo, V.L. (1967):
Heart rate of the developing chick embryo.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 127, 507-510
- Chen, Y. H., DeHaan, R. L. (1993):
Temperature dependence of embryonic cardiac gap junction conductance and channel kinetics.
J. Membrane Biol., 136 (2), 125-134
- Clark , E.B., Hu, N. (1990):
Hemodynamics of the developing cardiovascular system.
In: Bockmann, D.E., Kirby, M.L. (eds.): Embryonic origin of the defective heart development.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 601, 41-47
- Danforth. Jr., E., Burger, A. (1984):
The role of thyroid hormones in the control of energy expenditure.
Clin. Endocrinol. Metab., 13, 581-595
- Dawes, C.M. (1981):
The effects of cooling the egg on the respiratory movements of the hatching fowl, *Gallus g. domesticus*, with a note on vacuolisation.
Comp. Biochem. Physiol. 68, 399-404
- Dietz, M.W., van Kampen, M. (1994):
The development of thermoregulation in turkey and guinea fowl hatchlings: similarities and differences.
J.Comp. Physiol. 164B, 69-75

Dörner, M., Tönhardt, H., Jacobs, S. (1995):

Herzfrequenzvariabilität beim Hühnerembryo.

In: Prinzing, R. and Schaube, R. (eds) II Workshop: Prae-, peri- and postnatal processes of adaptation 1-15, J.W.Goethe - University (Frankfurt/Main)

Dunker, H.-R. (1991):

The evolutionary biology of homiothermic vertebrates: the analysis of complexity as a specific task of morphology.

In: Pfannenstiel, H.-D. (Hrsg.): Verh. Dtsch. Zool. Ges., 84, 39-60, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, Jena, New York

Fleisher, L.A., Frank, St. M., Sessler, D.I., Cheng, Ch., Matsukawa, T. (1996):

Thermoregulation and heart rate variability.

Clinical Science, 90, 97-103

Francis, D.W. (1962):

Heart rate of Day-Old S. C. White Leghorn Chicks.

Poult. Sci. 41, 1960-1962

Freeman, B.M. (1964):

The Emergence of the Homeothermic-metabolic response in the fowl *Gallus domesticus*.

Comp. Biochem. Physiol., 13, 413-422

Freeman, B.M. (1967):

Some effects of cold on the metabolism of the fowl during the perinatal period.

Comp. Biochem. Physiol., 20, 179-193

Freeman, B.M., Vince, A.V. (1974):

Development of the avian embryo.

Chapman and Hall, London

Girard, H. (1973):

Arterial pressure in the chicken embryo.

Am. J. Physiol., 224 (2), 454-460

Glossary of terms for thermal Physiology, (1987)

Pflügers Arch. 410, 567-587

Grieshaber, M.K., Nichelmann, M., Modrey, P. (1993):

DFG-Bericht zum Projekt: Perinatale Anpassungsmechanismen bei Vögeln, Beeinflussung des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels von Putenküken durch prä- und postnatale Temperaturerfahrung [Ni 336/2-1, 2-2, Gr 256/15-1]

Haque, M.A., Watanabe, W., Ono, W., Sakamoto, Y., Tazawa, H. (1994):

Comparison between invasive and noninvasive determinations of embryonic heart rate in chickens.

Comp. Biochem. Physiol., 108A, 221-227

Hardy, J.D. (1973).

Physiological temperature regulation.

Neurosci. Res. Prog. Bull 11, 304-310

Henderson, E.W. (1930):

Growth and development with special reference to domestic animals. XVI. The influence of the temperature and breeding upon the rate of growth of chick embryos.

Res. Bull. Mo. Agric. Exp. Sta., 149

Henderson, E.W, Brody, S. (1927):

The effect of temperature of the percentage rate of growth of the chick embryo.

Res. Bull. Mo. Agric. Exp. Sta., 99 Henderson, 1930;

Herrmann, S., Nichelmann, M. (1991):

Einfluß der Bruttemperatur auf physiologische und ethologische Temperaturregulationsmechanismen bei Moschusentenküken (*Cairina moschata*).

Verh. Dtsch. Zool. Ges. 84, 309

Hissa, R. (1988):

Controllig mechanisms in avian temperatur regulation: a review.

Acta Physiol. Scand., 132, Supp. 567, 1-148

- Holland, S., Höchel, J., Burmeister, A., Nichelmann, M., Janke, O. (1997):
A Method for measuring deep body temperature in avian embryos.
J. Thermal Biology, akzeptiert
- Hughes, A.F.W. (1949):
The heart output of the chick embryo.
J. R. Microsc. Soc. 69, 145-152
- Ignarro, L.J., Shideman, F.E. (1968):
Norepinephrin and epinephrin in the embryonic heart of chick: uptake
and subcellular distribution.
J. Pharmacol. Exper. Ther. 159, 49-58
- Immich, H. (1974) :
Medizinische Statistik.
F.K. Schattauer Stuttgart - New York.
- Inomoto, T., Mercer, J.B., Simon, E. (1983):
Interaction between hypothalamic and extrahypothalamic body temperatures
in the control of panting in rabbits.
Pflügers Arch. 398, 142-146
- Kalweit, U. (1997):
The effect of selected thermal stress on the heart rate of chick embryos of
different ages.
In: Tönhardt, H., Lewin, R. (eds.) 3rd workshop: Investigation of perinatal
development of birds, Freie Universität Berlin: 37-42
- Kalweit, U., Burmeister, A. (1995):
Zur Temperaturmessung nahe am Hühnerembryo.
In: Prinzinger, R. and Schaube, R. (eds.) 2rd.workshop: Prae-, peri- and
postnatal processes of adaptation, J.W.Goethe University (Frankfurt/Main):
V-1-V-11
- Kelso S.R., Perlmutter, M.N., Boulant, J.A. (1982):
Thermosensitive single unit activity of in vitro hypothalamic slices.
Am. J. Physiol., 242, R77-R84

Kirby, M.L., Stewardt, D.E. (1986):

Development of the ANS innervation of the avian heart.

In: GOOTMAN, P.M. (ed.): Developmental neurobiology of the autonomic nervous system. Humana Press Clifton New Jersey, 135-158

Koide, M., Tuan, R.S. (1989):

Adrenergic regulation of calcium-deficient hypertension in chicken embryos.

Am. J. Physiol. 257, H1900-1909

Künzel (1962):

Entwicklung des Hühnchens im Ei.

Paul Parey Verlag Berlin Hamburg

Laughlin, F.K., Lundy, H., Tait, J.A. (1976):

Chick embryo heart rate during the last Week of incubation: population studies.

Br. Poult. Sci., 17, 293-301

Lazzarini, A.A., Bellville, J.W. (1956):

Method for study of electrocardiogram of early chick embryo within the shell.

Proc. Soc. exp. Biol. Med., 93, 27-30

LeGrande, M.C., Paff, G.H., Boucek, R.J. (1966):

Initiation of vagal control of heart rate in the embryonic chick.

Anat. Rec. 155, 163-166

Lelorier, J., Minegima, N., Shideman, F.E. (1975):

Effect of ouabain on the innervated and non innervated embryonic chick heart.

Can. J. Physiol. Pharmacol., 53, 1005-1006

Lewin, R., Tönhardt, H. (1997):

Pulse Oximetry - A new method to get information about the cardiovascular system of chicken embryos *Gallus gallus f. domestica*.

In: Tönhardt, H., Lewin, R. (eds.) 3rd workshop: Investigation of perinatal development of birds, Freie Universität Berlin: 43-50

McNabb, F.M.A., Olseon, J.M.(1996):

Development of thermoregulation and its hormonal control in precocial and altricial birds.

Poultry and Avian Biology Reviews 7 (2/3), 111-125

Modrey, P., Nichelmann, M. (1992):

Development of autonomic and behavioural thermoregulation in turkeys *Meleagris gallopavo*.

J. therm. Biol., 17, 387-392

Moreng, R.E., Shaffer, C.S. (1951):

Lethal internal temperature for the chicken, from fertile egg to mature bird.

Poult. Sci., 30, 255-266

Nair, G., Dawes, C.M. (1988)

The effects of cooling the egg on the respiratory movements of the hatching quail (*Coturnix c. japonica*)

Comp. Biochem. Physiol. 67, 587-592

Nichelmann, M., Herrmann, S., Langbein, J., Bree, J. (1990):

Perinatale Beeinflussung der Temperaturregulation bei der Moschusente.

In: Pfannenstiel, H.-D. (Hrsg.): Verh. Dtsch. Zool. Ges., 83, 604, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, New York

Nichelmann, M., LANGE, B., Paulick, A. (1994):

Influence of ambient temperature on embryonic oxygen consumption in Muscovy ducks (*Cairina moschata*).

Pflügers Arch., 426, Suppl., R 98

Ono, H., Hou, P.-C.L., Tazawa, H. (1994):

Response of developing chicken embryo to acute changes in ambiente temperature: noninvasive study of heart rate.

Israel Journale of Zoology, 40, 467-479

Onogabe, I.O. (1993):

Hormonal control of the glycogenolysis in isolated chick embryo hepatocytes.

Exp. Cell. Res. 209, 1-5

Paganeli, C.V., Rahn, H. (1984):

Adult and embryonic metabolism in birds and the role of shell conductance.
In: Seymor, R.S. (ed.), Respiration and metabolism of embryonic vertebrates. Junk Publ., Dordrecht

Pappano, A.J. (1975):

Development of autonomic neuroeffector transmission in the chick embryo heart.

In: Lieberman, M., Sano, T.(EDS.): Developmental and physiological correlates of cardiac muscle. Raven Press, New York, 235-248

Patten, B. M.; Kramer, T. C. (1933):

The initiation of contraction in the embryonic chick heart.

Am. J. Anat., 53, 349-375

Paulik, A. (1993):

Einfluß der aktuellen Umgebungstemperatur auf den Energieumsatz von Moschusentenembryonen (*Carina moschata*).

Diplomarbeit, Humboldt - Universität zu Berlin, Institut für Biologie

Pirow, R. (1995):

Entwicklung der Herztätigkeit im letzten Drittel der Embryonalentwicklung der Moschusente *Carina moschata*.

Diplomarbeit, Humboldt - Universität zu Berlin, Institut für Biologie

Pirow,R., Nichelmann, M. (1994):

Entwicklung der Herzfunktion bei Embryonen der Moschusente unter besonderer Berücksichtigung der Lungenatmung.

In: Nichelmann, M., Tzschentke, B., Pirow,R. (Hrsg.): 1. Workshop - Perinatale Anpassungsmechanismen, Humboldt - Universität zu Berlin, 135-147

Rautenberg, W., Necker, R. (1975):

A comperison between peripheral and centrally generated cold sensitive signals in regulating heat production of the pigeon.

In: Depressed Metabolism and cold thermogenesis Jansky, L.: (ed.) 224-227. Charles Univ. Press. Prague

- Rickenbacher, J. (1975):
Der Funktionswechsl am embryonalen Herzen.
Schweiz. med Wschr., 105, 208-212
- Rickenbacher, J., Müller; E. (1979):
The development of cholinergic ganglia in the chick embryo heart.
Anat. Embryol., 155, 253-258
- Romanoff, A.L. (1960):
The Avian Embryo.
The Macmillan Company, New York
- Romanow, A.L., Sochen, M. (1929):
Thermal effect on the rate and duration of the embryonic heart beat of
Gallus domesticus.
Anat. Rec., 65, No 1, 59-68
- Saarela, S., Hissa, R., Kippo, K. (1980):
Influence of season on thermoregulatory response to noradrenalin and
monoamine content in the pigeon maintained in laboratory conditions.
Comp. Biochem. Physiol., 61V, 17-21
- Satinoff, E. (1978):
Neural organization and evolution of thermal regulation in mammals.
Science, 201, 16-22
- Scheunert, A., Trautmann, A. (1987):
Lehrbuch der Veterinärphysiologie.
Paul Parey Verlag Berlin und Hamburg, 144
- Schwarze, E.M., Schröder, L. (1979):
Kompendium der Geflügelanatomie
Gustav - Fischer Verlag
- Seidl W., Schule, M., Steding, G., Kluth, D. (1981):
A few remarks on the Physiology of the chick embryo Hear (*Gallus gallus*).
Folia Morphologica XXIX, Nr.3, 237-242

Soliman, F.F.A., T.M. Huston (1972):

The photoelectric plethysmography technique for recording heart rate in chick embryos.

Poult. Sci. , 51, 651

Sotherland, P.R., Spotila, J.R., Paganelli, Ch.V (1987):

Avian eggs: Barriers to the exchange of heat and mass.

J. exl. Zool., Suppl.1, 81-86

Sturkie, P.D. (1986):

Avian Physiologie.

Springer - Verlag New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo

Tazawa, H. (1973):

Hypothermal effect on the gas exchange in chicken embryo.

Resp. Physiol. 17, 21-31

Tazawa, H. (1978):

Gas transfer in the chorioallantois.

In: Piper, J. (ed.) Respiratory function in birds, adult and embryonic

Springer - Verlag, Berlin, 274-291

Tazawa, H., Mochizuki, M. (1978):

Oxygen transport in chicken embryos under hypothermal exposure.

Respirat. Physiol., 32, 325-334

Tazawa, H., Nakagawa, S. (1985):

Response of egg temperature, heart rate and blood pressure in chick embryo to hypothermal stress.

J. Comp. Physiol., B 155, 195-200

Tazawa, H., Rahn, H. (1986):

Tolerance of chick embryos to low temperatures in reference to the heart rate.

Comp. Biochem. Physiol., 85 A, 531-534

Tazawa, H., Lomholt, J.P., Johansen, K. (1985):

Direct measurment of allantoic blood flow in the chicken (*Gallus domesticus*).

Response to alteration in ambient temperature and pO₂ .

Comp. Biochem. Physiol., 81A, No. 3, 641-642

- Tazawa, H., Turner, J.S., Paganelli, C.V. (1988a):
Cooling rates of living end killing chicken and quail eggs in air and helium-oxygen gas mixture.
Comp. Biochem. Physiol., 90 A, 99-102
- Tazawa, H., Wakayama, H., Turner, J.S., Paganelli, C.V. (1988b):
Metabolic compensation for gradual cooling in developing chick embryos.
Comp. Biochem. Physiol., 92 A, 619-622
- Tazawa, H., Akiyama, R., Pearson, J.T. (1997):
Heart rate of developin avian embryos.
In: Tönhardt, H., Lewin, R. (eds.) 3rd workshop: Investigation of perinatal development of birds, Freie Universität Berlin: 11-25
- Tönhardt, H., Valentin, A. (1993):
Zur Entwicklung der Sympathikoadrenalen Einheit im Embryo von *Gallus domesticus*.
In: Nichelmann, M., Tzschentke, B., Pirow, R. (eds.) 1. Workshop:
Perinatale Anpassungsprozesse, Humboldt - Universität zu Berlin: 121-125
- Tönhardt, H., Bohnwagner, C., Jacobs, S. (1997):
Allantoic Fluid - Pool for Waste or useful Tool for Information about
Endocrine Function of Chicken Embryos.
In: Tönhardt, H., Lewin, R. (eds.) 3rd workshop: Investigation of perinatal development of birds, Freie Universität Berlin: 127-136
- Turner, J. S. (1985):
Cooling rate and size of bird`s eggs: A natural isomorphic body.
J. Therm. Biol., 10; 101-104
- Turner, S.J. (1990):
The thermal energetics of an incubated Chicken egg.
J. therm.Biol., 15, No. 3/4, 211-216
- van Golde, J., Mulder, T., v. Straaten, H., Blanco, C.E. (1996):
The Chorioallantoic Artery Blood Flow of the Chick Embryo from Stage 34 to 43.
Pediatr Res 40, 867-871

Weathers, W.W. (1979):

Climatic adaptation in avian standard metabolic rate.

Oecologia, 42, 81-89

Whittow, G.C. (1976)

Regulation of body temperature.

In: Avian Physiology (ed. P.D.Sturkie), Spriger - Verlag, New York, 146-173

Whittow, G. C., Tazawa, H. (1991):

The early development of Thermoregulation in birds.

Physiological Zoology, 64 (6), 1371-1390

Zhang, Q., Whittow, C.G. (1992):

The effect of incubation temperature on oxygen consumption and organ growth in domestic-fowl embryos.

J. therm. Biol. 17, 339-345

G **Anhang**

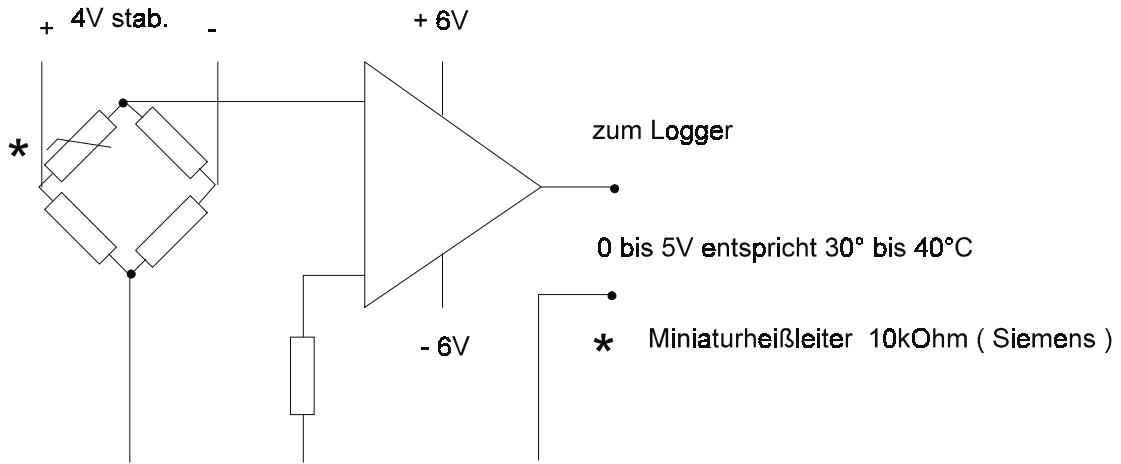


Abb. 25: Schaltbild eines Kanals zur Temperaturerfassung.

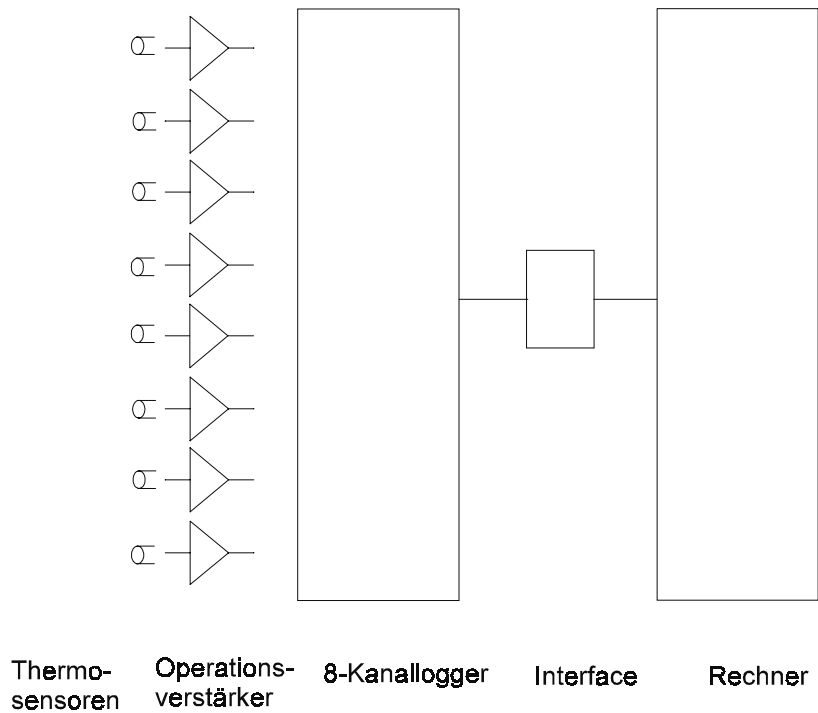


Abb. 26: Blockschaltbild der Temperaturerfassung.

Tab. 26: Zusammenstellung der Ausgangswerte, der Minima nach der jeweiligen Abkühlung sowie der Dauer, bis das Ausgangsniveaus erstmalig wiedererreicht wurde, aller untersuchten Eier mit lebenden Embryonen

Ei-Nr.	AW		Minimum		AW 1. mal wieder	
	HF [min ⁻¹]	EIT [°C]	HF [%]	EIT [%]	HF [min]	EIT [*10 sec]
1405-1804/4	241,5	37,6	89,44	96,31	31	235
1405-1804/10	261	37,6	85,06	94,79	41	319
1405-1804/6	252	37,7	88,10	95,31	22	246
1405-1804/8	238,5	37,6	88,05	95,37	20	232
1405-1204/2	244,5	37,7	93,25	95,84	4	212
1405-1204/4	253,5	37,8	87,57	96,28	44	413
1405-1204/8	265,5	38,0	88,14	96,52	-	438
1405-1204/10	264	38,0	86,36	96,16	45	438
1405-1604/3	252	38,0	92,86	97,29	41	-
1405-1604/5	253,5	38,1	87,57	95,88	50	-
1410-2402/1	255	37,6	80,00	93,73	-	382
1410-2402/2	252	37,6	78,57	94,22	43	296
1410-2402/4	247,5	37,6	82,42	94,69	41	349
1410-2402/6	246	37,7	82,93	92,81	55	489
1410-1703/2	240	37,5	82,50	93,74	43	312
1410-1703/5	235,5	37,5	89,17	94,20	27	363
1410-1703/7	250,5	37,4	81,44	91,01	36	456
1415-3103/1	252	37,4	78,57	93,19	-	659
1415-3103/2	229,5	37,5	78,43	90,86	55	-
1415-3103/4	253,5	37,5	78,11	92,60	75	343

Tab. 26, Fortsetzung I

Ei-Nr.	AW		Minimum		AW 1. mal wieder	
	HF [min ⁻¹]	EIT [°C]	HF [%]	EIT [%]	HF [min]	EIT [*10 sec]
1415-1004/3	252	37,5	76,19	92,39	37	-
1415-1004/4	261	37,5	73,56	90,56	-	506
1415-1004/7	256,5	37,6	70,18	89,98	45	-
1420-0304/1	249	37,4	74,70	90,97	50	445
1420-0304/2	234	37,4	76,92	88,62	27	307
1420-0304/3	246	37,3	73,17	92,19	44	435
1420-0304/4	249	37,4	72,29	89,48	55	368
1420-1104/1	244	37,7	71,31	88,80	50	507
1420-1104/3	258	37,8	76,74	92,05	60	-
1420-1104/4	256,5	37,8	74,85	90,83	125	-
1420-1104/5	255	37,6	82,35	92,80	110	732
1420-1104/7	244,5	37,6	73,62	90,79	70	562
1420-1104/8	244	37,5	73,77	91,53	55	574
1425-1704/1	247,5	37,6	65,45	87,93	75	484
1425-1704/3	253,5	37,7	73,37	90,79	85	-
1425-1704/6	243	37,7	71,60	90,42	135	557
1425-1904/4	258	37,5	65,12	83,66	60	570
1705-1503/1	244,5	37,6	85,89	99,33	43	583
1705-1503/2	249	37,7	86,75	99,34	41	1031
1705-1503/3	259,5	37,9	87,86	98,84	45	-
1705-1503/4	247,5	37,9	89,70	98,95	23	1015

Tab. 26, Fortsetzung II

Ei-Nr.	AW		Minimum		AW 1. mal wieder	
	HF [min ⁻¹]	EIT [°C]	HF [%]	EIT [%]	HF [min]	EIT [*10 sec]
1705-1503/6	255	37,8	87,06	99,16	43	-
1705-2307/3	262,5	38,0	89,14	98,96	50	-
1705-2307/4	253,5	37,8	92,31	99,31	80	-
1705-2307/5	255	38,0	91,76	99,27	39	-
1710-0803/1	253,2	37,9	82,94	94,46	55	-
1710-0803/2	246	37,9	85,37	94,78	30	349
1710-0803/3	238,8	37,7	82,91	92,95	-	433
1710-0803/4	265,2	38,1	81,45	93,92	55	485
1710-0803/5	248,4	38,0	84,54	94,40	23	671
1710-1303/1	254,4	37,9	82,55	94,47	70	-
1710-1303/2	248,4	37,8	84,54	95,98	-	429
1710-1303/3	258	37,9	86,05	95,52	32	487
1710-1303/4	258	37,9	81,40	93,33	42	493
1710-1303/5	246	37,9	80,49	93,24	38	522
1715-0202/1	246	37,9	80,49	93,06	33	565
1715-0202/3	240	37,8	77,50	92,53	50	571
1715-0202/4	260	38,0	71,54	90,14	50	553
1715-0202/5	240	37,9	82,50	89,17	23	639
1715-2502/2	261	38,1	71,26	91,13	120	379
1715-2502/3	268,5	38,2	71,51	92,44	60	283
1715-2502/4	267	38,1	78,65	91,41	80	340
1715-2502/5	255	38,0	75,29	92,31	44	377

Tab. 26, Fortsetzung III

Ei-Nr.	AW		Minimum		AW 1. mal wieder	
	HF [min ⁻¹]	EIT [°C]	HF [%]	EIT [%]	HF [min]	EIT [*10 sec]
1715-2502/6	262	38,1	73,28	90,54	80	337
1720-2601/1	252	37,8	64,29	86,75	50	318
1720-2601/2	256,5	38,0	58,48	85,87	50	321
1720-2601/3	252	38,7	64,29	91,50	27	155
1720-2601/4	268,5	38,0	62,57	85,54	90	248
1720-2802/2	249	38,0	72,29	90,43	-	-
1720-2802/3	232,5	38,0	74,84	91,83	-	697
1720-2802/4	259,5	38,1	67,05	90,02	-	399
1720-2802/5	262,5	38,1	68,57	89,55	50	352
1725-2703/2	261	37,9	68,97	89,88	55	644
1725-2703/3	255	37,9	63,53	87,49	95	-
1725-2703/5	247,5	37,8	65,45	86,84	-	650
1725-2703/6	240	37,9	70,00	87,07	43	-
1725-2703/7	255	37,8	61,18	86,12	90	626
1725-2903/1	261	37,8	57,47	87,48	50	-
1725-2903/2	252	37,9	61,90	85,07	85	-
1725-2903/3	259,5	38,0	62,43	88,86	50	-
1725-2903/4	253,5	38,1	59,17	86,23	100	504
1725-2903/5	265,5	37,9	61,02	85,55	-	-
1725-2903/7	252	38,0	73,81	88,56	40	-

Tab. 26, Fortsetzung IV

Ei-Nr.	AW		Minimum		AW 1. mal wieder	
	HF [min ⁻¹]	EIT [°C]	HF [%]	EIT [%]	HF [min]	EIT [*10 sec]
2005-2807/7	235,5	38,1	91,72	96,55	16	-
2005-2807/8	253,5	38,0	89,94	97,65	-	-
2005-2807/9	259,5	38,2	90,17	96,71	18	-
2005-2403/2	238,5	37,8	88,05	97,66	-	213
2005-2403/3	229,5	37,8	94,12	97,36	23	493
2005-2403/5	241,5	37,9	89,44	95,57	70	441
2005-2403/6	228	38,0	92,11	97,22	11	344
2005-2403/7	238,5	38,1	88,05	97,24	50	833
2010-2407/1	240	38,1	77,50	91,76	22	405
2010-2407/4	253,5	38,2	78,11	93,96	-	222
2010-2407/6	241,5	38,2	72,05	94,34	70	-
2010-2407/7	246	38,2	78,05	93,22	-	261
2010-2407/8	241,5	38,3	79,50	94,22	50	313
2010-0702/1	259,5	37,8	80,92	93,86	90	-
2010-0702/2	232,5	38,0	90,32	95,26	4	-
2010-0702/3	243	38,0	81,48	93,93	27	-
2010-0702/5	234	38,0	84,62	95,11	34	-
2010-0702/6	253,5	38,0	82,84	93,39	37	-
2010-0702/7	243	38,1	79,01	92,92	80	-
2015-1102/3	232,5	38,0	82,58	94,27	85	349
2015-1102/4	243	37,9	83,95	92,46	85	423
2015-1102/5	232,5	38,0	80,00	94,12	90	283

Tab. 26, Fortsetzung V

Ei-Nr.	AW		Minimum		AW 1. mal wieder	
	HF [min ⁻¹]	EIT [°C]	HF [%]	EIT [%]	HF [min]	EIT [*10 sec]
2015-1102/7	234	37,9	84,62	93,87	34	316
2015-1102/8	232,5	38,1	87,74	92,91	95	361
2015-1102/9	250,5	37,8	64,67	88,41	-	-
2020-2803/10	243	37,6	66,67	89,76	80	-
2020-2803/2	252	37,8	73,81	89,63	90	-
2020-2803/3	235,5	37,6	73,89	92,30	55	-
2020-2803/7	259,5	37,9	69,36	88,55	-	-
2020-2803/8	231	37,9	77,92	91,48	41	-
2020-0902/2	234	37,7	74,36	90,71	70	520
2020-0902/4	238,5	37,8	72,96	87,42	65	719
2020-0902/5	247,5	38,0	67,88	88,49	85	679
2020-0902/6	255	37,6	72,94	90,86	43	440
2020-0902/7	223,5	37,6	77,85	89,62	80	526
2025-2102/1	248	38,1	67,74	87,96	70	693
2025-2102/2	238	38,3	75,63	89,54	31	-
2025-2102/3	245	38,3	75,92	89,11	70	-
2025-2102/4	241	38,3	64,73	87,77	70	-
2025-2102/5	233	38,2	69,53	88,95	36	-
2025-2102/6	249	38,5	77,11	90,61	115	-
2025-2102/7	249	38,4	72,29	89,05	65	-
2025-2102/8	242	38,1	61,98	86,53	95	-

Tab. 27: Zusammenstellung der EIT-Ausgangswerte, der EIT-Minima nach 20minütiger Abkühlung sowie der Dauer, bis das EIT-Ausgangsniveau erstmalig wiedererreicht wurde, von allen untersuchten Eier mit toten Embryonen

Ei-Nr	EIT-AW [°C]	EIT-Min [%]	AW 1. mal wieder [*10sec]
t14-2604/1	37,1	87,84	445
t14-2604/2	37,0	83,60	439
t14-2604/3	36,9	90,33	407
t14-2604/4	37,0	83,79	633
t14-2604/5	37,2	89,29	444
t14-2604/6	37,2	86,32	385
t14-2604/7	37,2	87,49	492
t14-2604/8	37,2	83,42	498
t17-2302/1	37,3	86,33	496
t17-2302/2	37,4	90,12	397
t17-2302/3	37,3	89,87	453
t17-2302/4	37,3	87,66	309
t17-2302/5	37,2	88,27	538
t17-2302/6	37,2	89,76	357
t17-2302/7	36,9	84,47	287
t17-2302/8	37,3	83,78	322
t20-0103/1	37,4	91,77	363
t20-0103/2	37,6	92,26	454
t20-0103/3	37,6	91,58	443
t20-0103/4	37,6	91,03	516
t20-0103/5	37,5	91,42	399
t20-0103/6	37,4	92,56	453
t20-0103/7	37,7	86,94	297
t20-0103/8	37,4	88,81	524

Tab. 28: EIT verschiedener Eier des 20. BT mit unterschiedlicher Vorbehandlung

Lagerungsdauer zwischen Eiablage und Inkubationsbeginn			
ein Tag		sieben Tage	
Ei-Nr.	EIT-AW [°C]	Ei-Nr.	EIT-AW [°C]
2005-2307/8	38,0	2025-2511/2	38,3
2005-2307/11	38,0	2025-2511/3	38,5
2005-2307/9	38,2	2025-2511/6	38,3
2010-2407/1	38,1	2025-2511/5	38,0
2010-2407/4	38,2	2025-2511/4	38,1
2015-0303/4	38,1		
Rasse			
Weißes Leghorn, SPF (Lieferant: Lohmann Tierzucht GmbH)		Hybriden (Lieferant: Fachbereich Veterinärmedizin, Stall Koserstr.)	
Ei-Nr.	EIT-AW [°C]	Ei-Nr.	EIT-AW [°C]
2025-2511/2	38,3	2015-0303/4	38,1
2025-2511/3	38,5	2005-2307/7	38,1
2025-2511/6	38,3	2005-2307/8	38,0
2025-2511/5	38,0	2005-2307/11	38,0
2025-2511/4	38,1	2010-2407/1	38,1
		2010-2407/6	38,2
Abkühlung in der frühen Embryogenese			
keine Abkühlung, gesamte Inkubation in einem Brüter		Transport bebrüteter Eier in einem Isolierbehälter	
Ei-Nr.	EIT-AW [°C]	Ei-Nr.	EIT-AW [°C]
2025-2511/2	38,3	2015-0303/2	38,2
2025-2511/3	38,5	2015-0303/4	38,1
2025-2511/6	38,3	2005-2307/ 7	38,1
2025-2511/5	38,0	2005-2307/8	38,0
2025-2511/4	38,1	2005-2307/9	38,2
		2010-2407/4	38,2

Lebenslauf

Name	Ute Birgit Kalweit
geboren	am 25. Juli 1968 in Berlin
Familienstand	ledig
1975 - 1985	Oberschule in Basdorf
1985 - 1988	Berufsausbildung zum Zootechniker / Mechanisator gleichzeitig Erlangung der Hochschulreife
1988 - 1994	Studium der Veterinärmedizin an der Humboldt Universität zu Berlin bzw. an der Freien Universität Berlin
1994 - 1996	Assistentztierärztin in einer Kleintierpraxis in Berlin
seit März 1993	Forschungsarbeiten zur Promotion am Institut für Veterinär-Physiologie der Freien Universität Berlin

Mein herzlicher Dank gilt ...

... **Prof. Dr. H. Tönhardt** für die Überlassung des Themas, die engagierte Betreuung, die vielfältigen Anregungen und die ständige Diskussionsbereitschaft

... **B. Anders, C. Bohnwagner** und **S. Jacobs** für die technische Unterstützung bei der Versuchsvorbereitung und -durchführung

... den Mitgliedern der Arbeitsgruppen **Pränatale Entwicklung** des Instituts für Veterinär - Physiologie der Freien Universität und **Perinatale Anpassung** des Instituts für Biologie der Humboldt - Universität zu Berlin für die anregenden Diskussionen und hilfreichen Tips

... **Dipl. Statistikerin A. Ochsmann** für die Beratung und Unterstützung während der statistischen Auswertung der eigenen Versuchsergebnisse

... **D. Plaumann** für die Durchsicht der Arbeit und die stilistische Beratung

... allen **Mitarbeiterinnen** und **Mitarbeitern** des Institutes der Veterinär-Physiologie der Freien Universität Berlin für die freundliche Atmosphäre und die stete Hilfsbereitschaft

... der **Kommission zur Förderung des weiblichen wissenschaftlichen Nachwuchses** der Freien Universität Berlin für die großzügige Unterstützung

... nicht zuletzt meinen **Eltern** und meinem Verlobten **G. Kottlowski** für den motivierenden Rückhalt und ihre unendliche Geduld.