

Een eenvoudige incubator met een dagelijkse temperatuurcyclus

Jozef Nijs
Vaardijk 137
B-1981 Hofstade
België

INLEIDING

Kunstmatig geïncubeerde reptiele-eieren worden gewoonlijk bij een constante temperatuur uitbroed. In natuurlijke nesten ondergaan deze legsels echter meestal dagelijkse temperatuurfluctuaties (CONGDON & GIBBONS, 1990). Om deze periodieke schommelingen na te bootsen, heb ik een uitbroedmethode getest die de natuurlijke temperatuuromstandigheden zo veel mogelijk tracht te benaderen. Het idee was na te gaan of: a) de aldus geïncubeerde eieren bestand zijn tegen grote dagelijkse temperatuurschommelingen (tot 12°C), en b) deze legsels de twee seksen voortbrengen. Voor meer bijzonderheden hierover leze men TER BORG (1981) en LAGEWEG & IJLST (1993).

INCUBATOR

De incubator (Fig. 1) is gebaseerd op degene die beschreven is in BUDE (1980). Hij verschilt alleen hierin dat de eieren gedeeltelijk ingegraven zijn in vochtig zand, en dat er gebruik wordt gemaakt van twee elektronisch geregelde verwarmingselementen (50 W) in plaats van één. Alle temperaturen zijn een gemiddelde van metingen met twee digitale Cresta-thermometers (nauwkeurigheid 0,1°C) waarvan de sondes boven op de eieren liggen.

De eerste thermostaat regelt de 'warme' periode, en is aangesloten op een timer. Wanneer deze aanslaat verwarmt de incubator op tot de ingestelde temperatuur bereikt is. Deze temperatuur wordt dan aangehouden tot de timer afslaat. Op dat

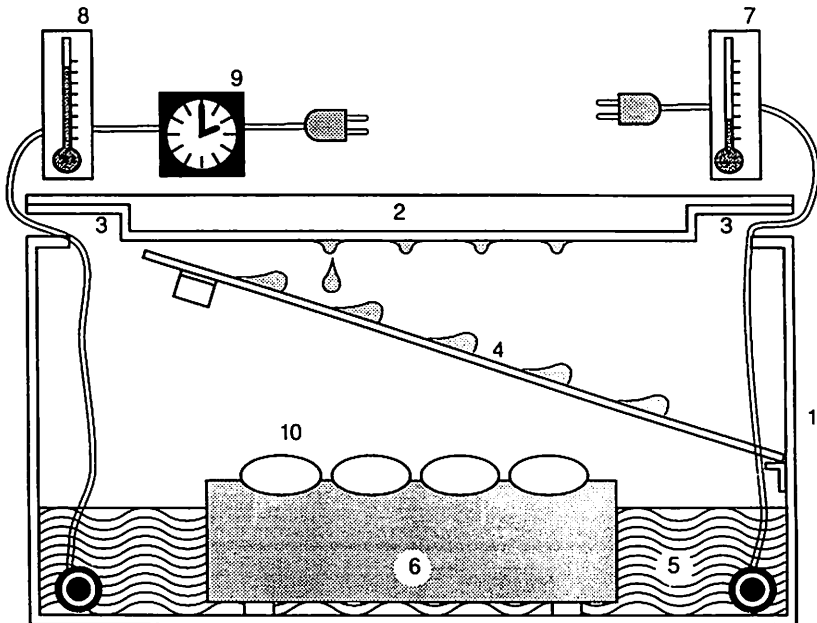


Fig. 1. Schema van de incubator. 1. Incubator; 2. Deksel; 3. Ventilatiestrook; 4. Druppelglas; 5. Water; 6. Vochtig zand; 7. Verwarmingselement met thermostaat lage temperaturen; 8. Verwarmingselement met thermostaat hoge temperaturen; 9. Timer; 10. Eieren.

ogenblik begint de incubator af te koelen tot de lage temperatuur bereikt is die is ingesteld met de tweede thermostaat.

Zo verkrijgt men per dagcyclus vier periodes: a) de opwarmingsperiode, b) de warme periode, c) de afkoelingsperiode en d) de koele periode.

De duur van de opwarmingsperiode is afhankelijk van het vermogen van het verwarmingselement, de hoeveelheid water en het verschil tussen de hoge en de lage temperatuur. De lengte van de warme periode is met de timer in te stellen. De duur van de afkoelingsperiode en de 'koude' periode hangt af van het temperatuurverschil dat ingesteld is en van de omgevingstemperatuur.

EXPERIMENTEN

Om de incubator uit te proberen, stelde ik vier verschillende tijd- en temperatuurregimes in, waarbij ik telkens een legsel incubeerde van ofwel de Sierschildpad (*Chrysemys picta marginata*), eerste drie tests, of van de Roodwang-

sierschildpad (*Trachemys scripta elegans*), vierde test.

Bij de eerste incubatie broedde ik de schildpadde-eieren uit bij een constante temperatuur van 27,5°C.

Bij de tweede incubatie varieerde de temperatuur van 25 tot 31,5°C (gemiddeld 27,8°C, Fig. 2.).

Bij de derde test schommelde de temperatuur tussen 19,5 en 31,5°C (gemiddeld 24,1°C, Fig. 3.).

Bij de vierde test varieerde de temperatuur tussen 21,5 en 32°C (gemiddeld 26,9°C, Fig. 4.). Oorspronkelijk was het ook hier de bedoeling om af te koelen tot 19,5°C, maar wegens de te hoge omgevingstemperatuur waarin de incubator zich op dat ogenblik bevond bleek dit onmogelijk, zodat de koele periode hier niet kon worden uitgevoerd.

De eieren van *Chrysemys picta marginata* werden geproduceerd na toediening van oxytocine (zie ook EWERT & LEGLER, 1978), terwijl ze van de Roodwang-schildpad op natuurlijke wijze werden

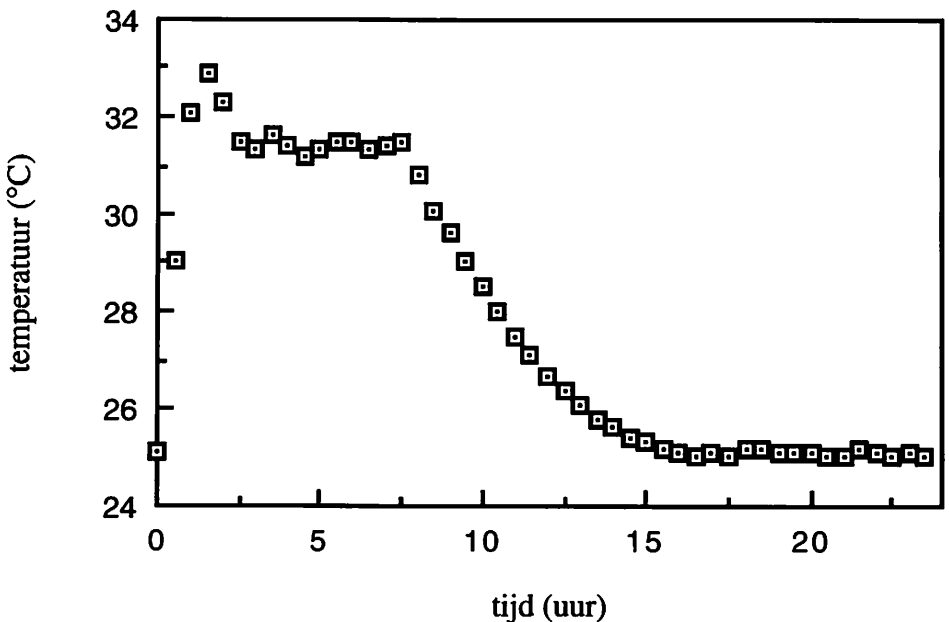


Fig. 2. Dagelijks temperatuurverloop tijdens de tweede test.

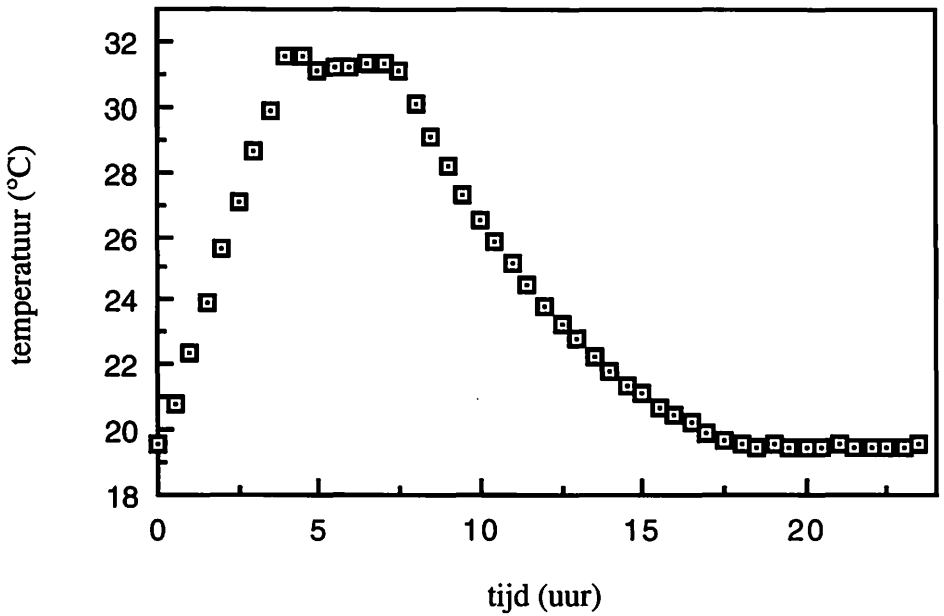


Fig. 3. Dagelijks temperatuurverloop tijdens de derde test.

gelegd in een buitenterrarium. Witkleuring der eieren, als een eerste teken van bevruchting, zag ik reeds de volgende dag. Alle eieren lichtte ik eens per week ter controle door (zie FOUST & TRIEMER, 1986).

RESULTATEN

De verkregen resultaten geef ik weer in de tabel.

Alle bevruchte eieren (respectievelijk vier, zeven, vier en zes eieren) kwamen uit, en de jongen schenen gezond. Drie

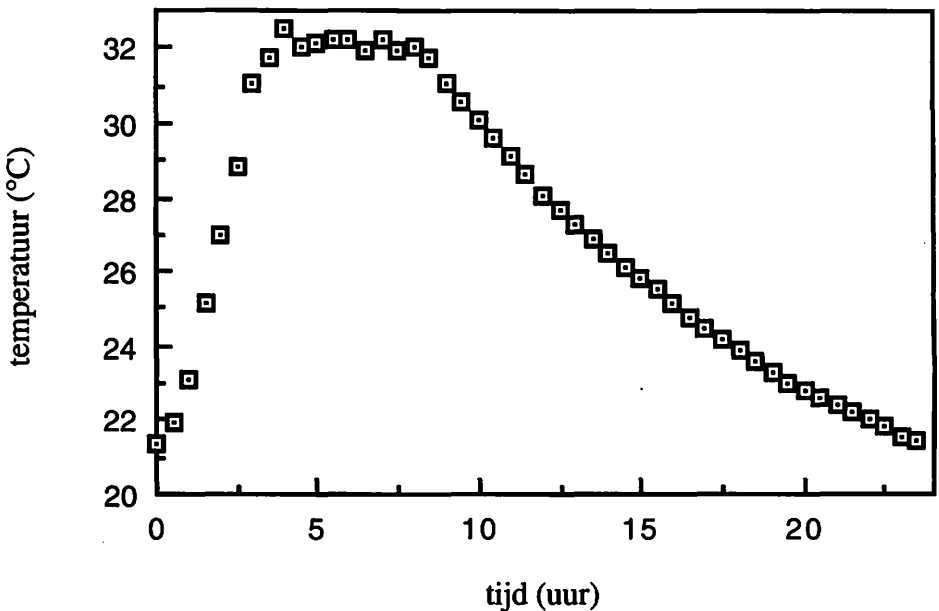


Fig. 4. Dagelijks temperatuurverloop tijdens de vierde test. De koele periode ontbreekt.

schildpadjes (van verschillende legsels) vertoonden minieme afwijkingen van het rugschild. Deze vervormingen kunnen veroorzaakt worden door een te droog substraat waarin de eieren geïncubeerd worden (LYNN & ULLRICH, 1950).

Tests 1 en 2, die bij ongeveer dezelfde temperatuur werden uitgevoerd (27,5 en 27,8°C) gaven, zoals te verwachten was, vergelijkbare incubatietijden. Uit test 3, met een veel lagere gemiddelde temperatuur (24,1°C), bleek dat de embryonale ontwikkeling ongeveer twee weken langer duurde.

DISCUSSIE

Het is mogelijk om met de beschreven incubator een dagelijkse temperatuurcyclus na te bootsen met schommelingen tot 12°C zonder dat dit een nadelige invloed op de embryonale ontwikkeling schijnt te hebben. CONGDON & GIBBONS (1990) hebben in natuurlijke nesten van *Chrysemys picta* in het zuid-

oosten van Michigan, in de Verenigde Staten, gemiddelde nesttemperaturen gemeten die dagelijks schommelden tussen 18 en 33°C. Dit impliceert dat op sommige ogenblikken de uitersten van dag en nacht nog verder uit elkaar lagen. Om het gevaar voor het afsterven der eieren te verminderen, heb ik ervoor gekozen om de extremen niet zo veel te laten fluctueren in de loop van de incubatie. Het eerste doel van het onderzoek is dus bereikt.

Of er zowel mannetjes als vrouwtjes gevormd worden en of die dieren later ook vruchtbaar zullen zijn, zal de toekomst moeten uitwijzen. Het is alleen mogelijk om bij de geboorte de sekse van de schildpadjes te bepalen indien men microscopische coupes maakt van de geslachtsorganen van de jongen. Hiervoor moeten deze echter opgeofferd worden, hetgeen ik niet wilde. Er is slechts één temperatuur, de zogenaamde spiltemperatuur (kritieke temperatuur),

Tabel. Incubatieduur en grootte van jongen afhankelijk van incubatieomstandigheden.

Test nr.	Afmetingen eieren (mm)	Incubatietijd (dagen)	Carapaxlengte jongen (mm)	Incubatietemperaatuur (°C)
1 ^(a)	(29,0-32,0) x (17,5-18,5)	54-55	24,0-25,5	27,5
2 ^(a)	(29,5-33,0) x (17,5-18,5)	55-57	25,5-26,5	25,0-31,5 (27,8) ^(c)
3 ^(a)	(30,0-31,5) x (18,5-19,5)	68-69	25,5-26,5	19,5-31,5 (24,1) ^(c)
4 ^(b)	(29,5-32,0) x (19,5-20,0)	77	26,5-29,0	21,5-32,0 (26,9) ^(c)

(a): eieren van *Chrysemys picta marginata*.

(b): eieren van *Trachemys scripta elegans*.

(c): gemiddelden.

waarbij men een evenredige (1 op 1) verdeling der geslachten verkrijgt. Aangezien deze spiltemperatuur soortspecifiek is, en nog onbekend voor de meeste soorten reptielen waarvan het geslacht bepaald wordt door de temperatuur tijdens de incubatie, is het testen van het temperatuurverloop noodzakelijk. Zelfs kleine verschuivingen kunnen een totaal andere verhouding der seksen opleveren. Zo vonden BULL & VOGT (1979) dat uit de eieren van *Graptemys ouachitensis* en *Graptemys pseudogeographica* bij dagschommelingen tussen 20 en 30°C voornamelijk mannetjes geboren werden, terwijl er bij temperaturen tussen 23 en 33°C juist vooral vrouwtjes geboren werden.

BESLUIT

De uiteindelijke vraag die we ons moeten stellen is of het nuttig is de temperatuur te laten fluctueren, omdat er bij incubatie bij constante temperatuur een vergelijkbaar percentage levensvatbare jongen verkregen wordt. Ook wat betreft de seksratio zijn er ogenschijnlijk geen problemen. Indien men bijvoorbeeld een eerste legsel bij lage, en een volgend bij hoge temperatuur incubiert, verkrijgt men theoretisch evenveel mannetjes als vrouwtjes. Bij mijn weten is er echter nooit een experiment verricht waarbij men deze jongen (of een statistisch representatieve groep ervan) volgde tot hun geslachtsrijpheid. Men weet dus niet met zekerheid of alle dieren vruchtbaar zijn en niet bijvoorbeeld slechts de helft. Dit lijkt mij een grote leemte te zijn in het onderzoek naar het fenomeen van de aan temperatuur gebonden geslachtsbepaling bij schildpadden, te meer omdat GUTZKE & CREWS (1988) bij een vertegenwoordiger van een andere reptielenorde, namelijk de Luipaardgekko (*Eublepharis macularius*) konden aantonen dat het seksuele gedrag van de vrouwelijke

dieren bepaald wordt door de incubatietemperatuur tijdens de embryonale ontwikkeling.

Deze onderzoekers incubeerden eieren van deze hagedis bij verschillende constante temperaturen, en stelden vast dat sommige vrouwtjes (mannetjes werden niet getest) een afwijkend seksueel gedrag vertoonden doordat ze zich gedeeltelijk als mannetjes gedroegen tijdens het seksuele voorspel. Deze vrouwtjes paarden nooit, legden geen eieren, en waren blijkbaar onvruchtbaar, alhoewel bij latere dissectie bleek dat ze geen intersekse waren en dat ze volkomen normale geslachtsorganen bezaten zonder mannelijk (testiculair) weefsel.

Een tweede reden om fluctuerende temperaturen te gebruiken is de veronderstelling dat hierdoor mogelijk grotere en sterkere jongen verkregen zouden kunnen worden. Om dit te bewijzen moeten er echter bijkomende tests uitgevoerd worden waarbij uitsluitend de temperatuur varieert terwijl andere parameters, onder andere de vochtigheid van het substraat, constant blijven. Zo is uit experimenten gebleken dat eieren van *Trachemys scripta* die geïncubeerd werden op een nat substraat, jongen voortbrengen die gemiddeld 2,5 mm groter waren dan die verkregen uit eieren die zich op een droog substraat ontwikkelden (CONGDON & GIBBONS, 1990).

De vochtigheid van het zand in mijn incubator heb ik echter niet gecontroleerd. Wanneer de eischalen gespannen stonden, beschouwde ik de vochtigheid als voldoende, anders voegde ik een hoeveelheid water toe. Wanneer, hoeveel en bij welke tests dit gebeurd is, heb ik niet genoteerd.

Vanwege deze argumenten acht ik het nuttig de natuurlijke nesttemperaturen zo dicht mogelijk te benaderen door gebruik te maken van de beschreven incubator.

DANKWOORD

Graag wil ik langs deze weg H. Janssen bedanken voor de opbouwende discussies betreffende de gedane tests. G. Winderinckx stond in voor de opvang en opkweek van de jongen. Gino Asselman maakte de schematische voorstelling van de incubator.

A SIMPLE INCUBATOR WITH DAILY FLUCTUATING TEMPERATURES

Eggs from captive reptiles are usually incubated at a constant temperature. In nature, eggs in nests undergo daily temperature fluctuations. In order to simulate this situation, a simple incubator with daily fluctuating temperatures was developed. The heating system consists of two thermostat heaters of which the one providing the higher temperature is connected to a timer.

The aim was to investigate whether the eggs were resistant to daily temperature fluctuation and to find out if both sexes were still produced, given that the sex of the hatchlings is determined by the incubation temperature.

Eggs of *Chrysemys picta marginata* and *Trachemys scripta elegans* were tested using different temperature regimes. As all the eggs hatched, it seems that fluctuating temperature had no detrimental effect on the embryonic development. We now have to wait until the young reach sexual maturity to determine whether both sexes were produced and if they are fertile.

LITERATUUR

- BORG, J.P. ter, 1981. De invloed van de broedtemperatuur op de sekseverhouding in legsels van reptielen. *Lacerta* 39: 171-175.
- BUDDE, H., 1980. Verbesserter Brutbehälter zur Zeitigung von Schildkröten-Gelegen. *Salamandra* 16: 177-180.
- BULL, J.J. & R.C. VOGT, 1979. Temperature-dependent sex determination in turtles. *Science* 206: 1186-1188.
- CONGDON, J.D. & J.W. GIBBONS, 1990. Turtle eggs: Their ecology and evolution. In: Gibbons J.W. (red.), *Life history and ecology of the slider turtle*. pp. 109-123. Smithsonian Institution Press, Washington D.C.
- EWERT, M.A. & J.M., LEGLER, 1978. Hormonal induction of oviposition in turtles. *Herpetologica* 34: 314-318.
- FOUST, A. & D.N. RIEMER, 1986. Candling turtle eggs. *Herpetological Review* 17: 43-44.
- GUTZKE, W.H.N. & D. CREWS, 1988. Embryonic temperature determines adult sexuality in a reptile. *Nature* 332: 832-834.
- LAGEWEG, W. & L. IJLST, 1993. Broedtemperatuur en sekshormonen bij de Roodwangschildpad (*Trachemys scripta*) en de Europese moerasschildpad (*Emys orbicularis*): een directe relatie. *Lacerta* 51: 145-151.
- LYNN, W.G. & M.C. ULLRICH, 1950. Experimental production of shell abnormalities in turtles. *Copeia* 4: 253-263.