



KUNSTMATIGE OF GEHOLPEN INSEMINATIE BIJ SLANGEN ALS EEN NIEUWE METHODE OM NAKWEEK IN GEVANGENSCHAP TE BEVORDEREN DEEL 1

ARTIFICIAL OR ASSISTED INSEMINATION IN SNAKES AS A NEW METHOD TO AID CAPTIVE BREEDING. PART 1.

Raymond Hoser, (Snakebusters)
488 Park Road
Park Orchards
Victoria, 3114, Australia
E-mail: adder@smuggled.com

Raymond Hoser (Snakebusters)
488 Park Road
Park Orchards
Victoria, 3114, Australia
E-mail: adder@smuggled.com

Samenvatting

Hierna volgt een gedetailleerde uitleg van nieuwe technieken, ontwikkeld om te helpen bij het in gevangenschap nakweken van slangen en hagedissen. Voor het eerst is een manier ontwikkeld om zaad te verzamelen om daar vrouwtjes mee te insemineren, met als eindresultaat drachtige vrouwtjes. De voordelen zijn duidelijk, onder andere het fokken met exemplaren die niet meer geneigd zijn te paren en de mogelijkheid zaad in plaats van reptielen te transporteren, tussen stadswijken, steden, of zelfs staten en landen. In de Australische context is dit significant, omdat er in de meeste staten een 'zesmaandenregel' geldt. Dit maakt fokken van dieren zelf logistiek moeilijk. In Europa, waar landen mogelijk vergunningen eisen voor het verplaatsen van levende slangen en hagedissen, zou zaadtransport deze vereisten kunnen omzeilen. Toen we met slangen werkten,

Abstract

Following is a detailed explanation of new techniques developed to assist in the captive breeding of snakes and lizards. Developed here for the first time ever is a means to collect and transfer semen from males and to inseminate females, the end result being gravid reptiles. The benefits are obvious. This includes that of breeding specimens not inclined to mate and the ability to transport semen, rather than reptiles across suburbs, cities, or even states and countries. In the Australian context this is significant as there are 'six month rules' in most states, making breeding loans of actual specimens sometimes logistically difficult. In Europe where different countries may seek permits for movements of live snakes and lizards, semen transport may possibly bypass these requirements. While most of our work has been with snakes, we have trialled the same techniques with lizards

hebben we dezelfde technieken ook bij hagedissen getest, en hebben we ondervonden dat wat voor slangen geldt, ook opgaat voor hagedissen. In de Europese context maakt deze methode hybriden tussen taxa simpel te bereiken, omdat het niet langer vereist dat de reptielen paren.

Inleiding

Alle hagedissen en slangen die in onze faciliteit gefokt zijn (Elapiden, pythons en grote skinken), zijn op een vergelijkbare manier gehuisvest en worden aan dezelfde jaarlijkse temperatuurregimes blootgesteld. Dit is in detail beschreven in Hoser (2006) en Hoser (2007). Samengevat houdt dit alles in: een koele periode van zeven weken, waarbij de temperatuur van het verblijf te allen tijde onder de 20°C blijft, met wellicht incidentele stijgingen hierboven, als het reptiel wordt gebruikt in een show of demonstratie. De temperaturen laten een zwakke dagcyclus naar boven en naar beneden zien. De koele periode wordt gevolgd door een periode van twaalf uur per dag maximale verwarming en twaalf uur nacht. Daarna krijgen de dieren achttien uur per dag verwarming of maximale verwarming wat betreft het warmste deel van het verblijf. Bij ons houdt 'verblijf' een grote plastic bak in. De precieze timing van de 'wintermaanden' in onze faciliteit is grofweg gelijk aan die in het wild, maar onze voorkeur gaat ernaar uit de seizoenen ongeveer acht weken (twee maanden) vooruit te laten lopen op die van hun wilde tegenhangers hier in Melbourne in Victoria. Het eindresultaat hiervan is, dat onze slangen zich eerder voortplanten. Zoals in 2007, toen onze eerste (venomoid) fokvrouw Oostelijke bruine slang (*Pseudonaja textilis*) eind oktober een compleet legsel van acht bevruchte eieren legde, terwijl de wilde tegenhangers gewoonlijk eind

and found that what is reported here for snakes transposes to lizards as well. In the European context, the methods now make hybrids between taxa simple to achieve, as it no longer requires the reptiles to mate.

Introduction

All squamates bred at our facility (elapids, pythons and large skinks), are housed similarly and subjected to the same annual temperature regimes. This is spelt out in Hoser (2006) and Hoser (2007). In summary it involves 7 weeks of cooling whereby the cage temperature is kept below 20°C at all times (with rare rises above this perhaps if the reptile is used in a show or demonstration). Temperatures do still have a slight diurnal cycle of up and down. This is followed by a period of 12 hours a day 'full heat' and 12 hours of 'night', after which the reptiles get 18 hours a day heat or all heat, in terms of the warmest section of the cage. For us 'cages' are in fact large plastic tubs.

The exact timing of the 'winter' months at our facility broadly mirrors that of the wild, but our preference is to run the seasons about 8 weeks ahead of wild counterparts here in Melbourne, Victoria, the end result being our snakes breed earlier. For example in late 2007, our first breeding female (venomoid) Eastern Brown Snake (*Pseudonaja textilis*) laid a full clutch of 8 fertile eggs at end October, whereas the wild counterparts usually lay at end December. Two years earlier the same snake produced 10 eggs (9 fertile - see Hoser 2006). In spring of 2006 (broadly referred to here as July-November here in Australia), it was attempted to breed Jaffa (Collett's) Snakes (*Panacodochis colletti*) at our facility. The snakes were two males aged 3 years and a four year old female.





Eastern Brown Snake met eieren. Foto: Raymond Hoser
Eastern Brown Snake with eggs. Photo: Raymond Hoser

december leggen. Twee jaar eerder produceerde dezelfde vrouw tien eieren (waarvan negen bevrucht, zie Hoser, 2006).

In de lente van 2006 (hier in Australië grofweg de periode juli-november) werd een poging gedaan om Collett's slangen (*Panacedechis colletti*) te fokken in onze faciliteit. Het betrof twee mannen van drie jaar oud en een vier jaar oude vrouw. Tenzij een poging tot fokken wordt gedaan, huisvesten we onze reptielen gewoonlijk individueel, aangezien dit veel voordelen heeft wat betreft verzorging. Wanneer we onze reptielen transporteren voor demonstraties, vaak dag aan dag voor vele weken, worden ze groepsgewijs gehouden, met als enig criterium dat de slangen van vergelijkbaar formaat zijn, waarbij het er niet toe doet wat voor soorten het zijn. Het komt vaak voor, dat deze dieren paren of paarpogingen doen tijdens het transport, waaronder ook slangen van verschillende soorten (Hoser 2005b). De mannetjes Collett's slangen werden vanaf het moment dat ze uit het ei kwamen, gehouden bij Paul Fisher (Hoppers Crossing, Victoria). Het vrouwtje werd twee jaar grootgebracht door Scott Eipper en daarna ongeveer twee jaar door mijzelf gehouden, terwijl ze was uitgebroed door een andere fokker. Hoewel één van de mannetjes laat in 2006 poogde het vrouwtje te beklommen en met haar te paren, volgde er geen daadwerkelijke copulatie. Toentertijd dacht ik simpelweg dat het mannetje niet genoeg zijn best deed en dat het misschien beter zou worden naarmate hij ouder zou worden, zoals vaker het geval is bij slangen. De volgende lente (2007) werd weer een poging gedaan met de dieren te fokken, maar was er weer geen geslaagde paring. Deze keer deden beide mannetjes hun uiterste best, maar toch ontweek het vrouwtje de copula-

Unless mating is being attempted, we usually house all our reptiles as one per cage as there are numerous husbandry advantages. When shipping our reptiles for demonstrations, often day after day for many weeks, reptiles are grouped with the only limiting parameter being that the snakes be of similar size, with taxa being irrelevant. It is common for them to mate or attempt to mate when in transit, including snakes of different taxa (Hoser 2005b).

The males Collett's Snakes had been held since hatching at the facility of Paul Fisher (Hoppers Crossing, Victoria) and the female raised for two years by Scott Eipper and then held by myself for about two years, being hatched by another breeder. While one of the males attempted to mount and mate the female in late 2006, no actual copulation occurred. At the time it was thought simply that the male wasn't trying hard enough, and perhaps the male may improve with age, as is often the case with snakes.

The following spring (2007), it was attempted to breed the snakes again and there was no success in mating. This time both males tried hard and yet the female successfully avoided copulation. She would flee as soon as the males attempted to mount her. The cooling regime the previous 'winter' had been particularly brutal in that the reptiles were kept colder for longer (8 weeks under 20°C) and this reflected across the board in particularly vigorous mating activity across all taxa.

It is mentioned here that all the Collett's had been made venomoid in late 2004, using the successful method detailed earlier that year by Hoser (2004). In fact all Hoser elap-





tie met succes. Ze vluchtte steeds zo gauw de mannetjes probeerden haar te beklimmen. Het koelingsregime de voorafgaande 'winter' was bijzonder rigoreus geweest in die zin, dat de reptielen kouder werden gehouden voor een langere periode (acht weken beneden de 20°C) en dit resulteerde in bijzonder energieke paaractiviteit onder alle soorten. Hierbij vermeld ik, dat alle Collet's slangen venomoïde waren gemaakt laat in 2004, gebruikmakend van de succesvolle methode eerder dat jaar in detail beschreven in Hoser (2004). In feite zijn alle elapide slangen waaraan in dit verhaal gerefereerd wordt, langetermijn venomoïden.

'Venomoïde' duidt op een permanente chirurgische verwijdering van de gifklieren van een slang om deze verder als effectief niet-giftig door het leven te laten gaan. Daarmee is het dier de rest van zijn leven onschadelijk voor mensen. Venomoïde dieren zijn per definitie niet giftig of gevaarlijk voor mensen en claims die het tegendeel beweren zijn onwaar. Venomoïden hebben het welzijnsvoordeel, dat zij niet hoeven worden gehaakt, gepind, of bij de staart of nek beetgepakt met een tang. Het weghalen van negatieve veiligheidsaspecten heeft als resultaat, dat de slangen beter aangepast zijn en als regel elke noodzaak verliezen om menselijke handteerders aan te vallen of te bijten, wat het compleet tegenovergestelde is van wat anders vaak gezien wordt bij giftige slangen.

Voor wat betreft deze verhandeling is bekend, dat de venomoïde status van een slang geen effect heeft op de vruchtbaarheid, aangezien langetermijn venomoïde slangen zich hebben voortgeplant in onze faciliteit. Hierbij zijn normale, gezonde [en giftige] jongen geproduceerd, waaronder doodsadders (*Acanthophis antarcticus*),

ids referred to in this paper are as of 2007, long-term venomoids. 'Venomoid' means permanent surgical removal of venom glands from a snake to render it non-venomous (effectively) harmless to humans for the rest of its life. Venomoids by definition are neither venomous nor dangerous to humans and claims to the contrary are false. Venomoids have the welfare advantage of not needing to be stick handled, pinned, tailed, or necked, (due to the removal of adverse safety issues), the result being better adjusted snakes that as a rule lose any urge to attack or bite human handlers, which is the complete opposite of what is often otherwise seen in venomous snakes.

For the purposes of this paper, the venomoid state is known to have no effect on fertility as long-term venomoids have been bred at our facility (producing normal healthy (and venomous) young), including Death Adders (*Acanthophis antarcticus*), Eastern Brown Snakes (*Pseudonaja textilis*), Tiger Snakes (*Notechis scutatus*), and Copperheads (*Austrelaps superbus*), which are all elapid taxa we held in the relevant period (2004-7) for which we had adult pairs, excluding our Red-bellied Black Snakes (*Pseudechis porphyriacus*). This includes across several seasons involving the same snakes.

Mentioned here is that our Red-bellied Black Snakes (2 males and a female) mated and produced 'slugs' in 2005/6, and hence by definition hadn't bred, but at the time of writing this paper the female was noticeably gravid again (end 2007) and was expected to produce young either late in 2007 or early 2008 (also see later this paper).

In my experience, normally fertile female snakes that are either ovulating or about

Oostelijke bruine slangen (*Pseudonaja textilis*), Australische tijgerslangen (*Notechis scutatus*) en Australische koperkoppen (*Austrelaps superbus*). Dit zijn alle elapide taxa die we gehouden hebben in de relevante periode (2004-2007) en waarvan we geslachtsrijpe koppels hadden, exclusief onze roodgebuite zwarte slangen (*Pseudechis porphyriacus*). Hieronder vallen meerdere seizoenen waarin dezelfde slangen zich voortplantten. Hier wordt opgemerkt, dat onze roodgebuite zwarte slangen (twee mannen en één vrouw) paarden en in 2005/2006 slugs produceerden en zich dus officieel niet hebben voortgeplant. Ten tijde van het schrijven van deze verhandeling echter, was het vrouwtje duidelijk opnieuw drachtig (eind 2007) en er werd verwacht dat zij jongen zou baren laat in 2007 of vroeg in 2008 (zie ook verderop in deze verhandeling). Het is mijn ervaring, dat vruchtbare vrouwtjes die ovuleren of dat binnenkort gaan doen, graag beklommen worden door mannetjes en dat ze graag paren. Toch was het hierboven vermelde vrouwtje Collet's slang fel tegen dit idee. Het was een gevolg van deze schijnbare uitputting van ideeën of manieren om paringen aan te moedigen, dat ik besloot buiten de vakjes te denken en kunstmatige inseminatie (KI) wilde proberen.

Materiaal en methoden

De theorie was simpel. Verkrijg zaad van het mannetje en breng het in bij het vrouwtje. Daarna zouden de spermatozoa de rest moeten doen. Een analyse van KI-methoden, gebruikt bij andere gewervelden zoals vee, honden, schapen, mensen en zelfs vogels, gaf twee belangrijke methoden om zaad te verkrijgen. Eén daarvan was elektro-ejaculatie, waarbij een elektrische schok een ejaculatie veroorzaakt. Om verscheidene re-

to, are happy to be mounted and mated and yet this above-mentioned female Collett's was violently opposed to the idea. It was as a result of this apparent exhaustion of ideas or means to encourage mating that I decided to 'step outside the square' and attempt artificial insemination.

Materials and Methods

The theory was simple. Get semen from the male and put it into the female. After that, the spermatozoa should do the rest! Analysis of AI methods used for other vertebrates such as cattle, dogs, sheep, humans and even birds, yielded two main methods to acquire semen. One was 'electro-ejaculation', where by an electric shock causes ejaculation. For several reasons, the idea was thought not viable in terms of the snakes.

Getting hold of an 'electroejaculation machine' was near impossible or cost prohibitive and then there was the problem of working out the voltage required to get semen but not kill the reptile by electrocution. That is assuming the process was even possible for reptiles! The alternative was to masturbate the snakes to get semen. This was the preferred method of choice for most animals including bulls and horses, who are generally made to mate with a false vagina. However the concept of masturbating snakes was unknown territory and one that I could get no guidance from by any veterinarians or others I thought likely to know. Hence the idea of masturbating snakes to ejaculate semen was one that I had to develop from scratch. In hindsight it was remarkably simple.

Over the last 40 years of keeping, breeding and observing snakes, observations





denen achtte ik deze methode niet geschikt voor slangen. Een elektro-ejaculatiemachine verwerven was nagenoeg onmogelijk, of was duur en er was bovendien nog het probleem van het bepalen van het voltage dat benodigd is om zaad te verkrijgen zonder het reptiel te doden door elektrocutie. En bij dat alles nog aangenomen, dat dit proces mogelijk zou zijn bij reptielen!

Het alternatief was de slangen masturberen om zaad te verkrijgen. Dit was de voorkeursmethode voor de meeste dieren, waaronder stieren en hengsten, die gewoonlijk tot paren worden gestimuleerd met een nagemaakte vagina. Hoe dan ook, het concept slangen te masturberen was onbekend terrein, een terrein waarop ik bovendien geen begeleiding kon krijgen van enige dierenarts of anderen van wie ik dacht dat ze het zouden kunnen weten. Vandaar dat het idee om slangen te masturberen om zaad te verwerven er één was dat ik zelf moest ontwikkelen vanuit het niets. Achteraf bekeken was het opmerkelijk eenvoudig. Het gedurende 40 jaar houden, kweken en observeren van (parende mannetjes-) slangen, leverde uiteindelijk enkele aanwijzingen op. De meeste mannelijke slangen werpen (bij de vervelling, red.) zogenaamde zaadpluggen af, die in wezen druppels gedroogd en oud zaad zijn dat zich heeft verzameld in de hemipeniszakken. Daardoor wist ik dat slangen ook zaad afscheiden of prijsgeven

of male snakes and mating snakes yielded certain pointers. Most male snakes shed so called 'semen plugs' which are essentially globules of dried and old semen that accumulate in the hemipenal pockets. Hence I knew that snakes oozed or released semen at times other than copulation.

This concept went further when it was realized that sometimes male snakes mount females, attempt to mate without success and then ejaculate semen over a female. Alternatively and worst case, would be a male snake mating that breaks off the copulation and has semen on the hemipenes. This occurs naturally and if one looks at the picture of the everted hemipene in a male Death Adder on page 19 of Hoser (1989) you will see exactly this.

Knowing all the above pointers, it was thought that it may be possible to stimulate a known fertile male snake that has mounted a female to get excited and



Doodsadder. Foto: Raymond Hoser
Death adder. Photo: Raymond Hoser

op andere momenten dan tijdens een copulatie. Deze veronderstelling ging verder, toen ik me realiseerde dat mannelijke slangen soms vrouwtjes beklimmen, pogen met haar te paren zonder succes en dan zaad over haar ejaculeren. Een alternatief - en het ergste geval - zou zijn, dat een mannetje dat aan het paren is de copulatie afbreekt en zaad aan één van de hemipenes heeft. Dit komt van nature voor en als men de afbeelding bekijkt van de naar buiten gekeerde hemipenis van een mannelijke doodsadder op pagina 19 van Hoser (1989), ziet men dit verschijnsel duidelijk. Alle aanwijzingen hierboven kennende, had ik het idee dat het mogelijk zou moeten zijn, dat een mannetje dat een vrouwtje heeft beklommen (en waarvan bekend is dat hij vruchtbaar is), te stimuleren om opgewonden te raken en zaad te ejaculeren in een hoeveelheid die voldoende is om te verzamelen en over te plaatsen naar het vrouwtje. Op basis van waarnemingen van de hoeveelheid en stroperigheid van zaad dat afgescheiden wordt in zaadpluggen en van ervaringen met ejaculerende slangen, besloot ik een glazen pipet of capillair buisje te gebruiken om het zaad te verzamelen en in te brengen bij het vrouwtje. Deze hulpmiddelen worden gemaakt in verschillende maten en vormen en toevallig was de eerste die ik testte de beste. Dit was een Kimax-51 1.5-18 X 100 mm recht glazen capillair buisje dat commercieel wordt verkocht in colli van 100 buisjes, verpakt in kleine glazen containers in dozen van diverse aantallen. Dit zijn ook de geprefereerde buisjes van aviculturisten die KI toepassen. Deze werden geadviseerd, omdat ze 'non-Heparine' gecoat zijn. Er wordt gedacht dat Heparine een nadelig effect heeft op zaad. De pipetten waren in het begin moeilijk te verkrijgen, omdat die-

ejaculate semen in a quantity sufficient to be collected and transferred to a female snake. Based on observations of the quantity and consistency of semen shed in semen plugs and observed when snakes ejaculated, it was decided to use a glass pipette or capillary tube to collect the semen and transfer to the female snake. These come in various sizes and shapes and as it happens the first one tried was the best. This was a 'Kimax-51 1.5-18 X 100 mm straight glass capillary tube' that is sold commercially in 100 tube lots packed in small glass containers in boxes of various numbers. These are also the tubes of choice for aviculturists who use AI. They suggested these as they are 'non-Heparin coated' as Heparin is believed to be adverse to semen.

The pipettes were in the first instance hard to acquire as neither veterinarians, GP's, hospitals or pathology labs routinely stock them. However science departments of most schools use these or similar and hence small numbers were readily available, including in various sizes and formats in order to confirm the best tube for the job, that being the one just named.

The first successful masturbation of a snake was when a male Eastern Brown Snake was seen mounting a female (who was already gravid from him). The caudal region was stroked with my finger and the snake was visibly aroused and attempted to copulate with it. As I rubbed the snake (just above the cloacal opening on the side of the base of the tail), the snake became stimulated and after less than a minute he ejaculated semen. This was gathered by sucking into the pipette and then checked on a microscope slide at 400X magnification and the





renartsen, noch huisartsen, noch ziekenhuizen noch pathologielaboratoria ze gewoonlijk in voorraad hebben. Echter, wetenschappelijke afdelingen van de meeste scholen gebruiken deze of vergelijkbare modellen. Daardoor waren kleine aantallen in diverse maten en formaten gemakkelijk verkrijgbaar om uiteindelijk de beste pipet voor deze klus vast te stellen. Dat was dus degene die zojuist is genoemd.

Zaad verkrijgen

De eerste succesvolle masturbatie van een slang was een mannelijke oostelijke bruine slang, die gezien werd terwijl hij bezig was een vrouwtje te beklimmen, dat al drachtig was van hem. Ik streefde het gebied rond de staart met mijn vinger en de slang was zichtbaar opgewonden en poogde ermee te copuleren. Toen ik tegen de slang aanwreef, net boven de cloaca-opening aan de kant van de staartbasis, werd de slang gestimuleerd en na minder dan een minuut ejaculeerde hij zijn zaad. Dit verzamelde ik door het de pipet in te zuigen, waarna ik het controleerde op het objectglaasje van een microscoop bij 400-X-vergroting. De spermacellen waren duidelijk zichtbaar.

Iets vergelijkbaars deed ik met de eerste Collett's mannetjesslang, om die een paarpoging te laten doen met het vrouwtje, en weer kon ik binnen 60 seconden zaad afnemen van beide hemipenes. Bij het volgende mannetje, dat ook geïnteresseerd was in een paring met het vrouwtje, maar haar nog niet beklommen had, nam ik ook zaad af. In zijn geval werd de slang simpelweg beetgepakt bij de staart, terwijl hij in zijn verblijf zat. Ik wreef weer op het relevante gedeelte en alweer kon ik zaad oogsten. Dit was de eerste slang die daadwerkelijk gemasturbeerd werd, zonder dat er met een vrouwtje werd gepaard.

sperm cells were readily visible.

Similar was attempted with the first male Collett's Snake to attempt to mate the female and again semen was collectable from both hemipenes within 60 seconds. The second male, also interested in mating the female, but not yet mounted her, was also used for semen collection. In it's case, the snake simply had it's tail grabbed by myself as the snake sat in the cage. The relevant region was rubbed and again semen was yielded. This was the first snake actually masturbated without actually mating a female.

A Black-headed Python was seen trying to mate an Olive Python and it was removed from the transport box. The tail was rubbed (at the same place as for the elapids) and the snake yielded globules of semen within seconds. In other words it was possible to masturbate a snake and get semen.

Taking the process further, two male Tiger Snakes held in cages on their own and simply resting were each removed and easily masturbated to yield semen. With practice, acquiring semen from snakes (by rubbing the anterior caudal region above the vent) was easy, and for snakes that were apparently fertile, semen was now readily available. In terms of the AI process, the theoretically hardest part of the operation was now complete. In fact by the method devised, getting semen was now simple and routine and could be done with an un-aroused snake simply resting on it's own in a cage. Please note that in terms of the venomous taxa used, all were well-adjusted venomoid (no venom in the snakes) that are handled (by free handling only) for live shows on a daily basis. Hence

Een zwartkoppython werd gezien, terwijl hij probeerde met een olijfython te paren en werd uit de transportbox gehaald. Ik wreef de slang op de staart, op dezelfde plaats als bij de elapiden, en de slang gaf binnen enkele seconden druppels zaad. Het bleek dus mogelijk te zijn om een slang te masturberen en zaad te verkrijgen.

Verdergaand met dit proces, haalde ik twee mannelijke Australische tijgerslangen, die in hun eentje in hun verblijven zaten en aan het rusten waren, uit hun verblijven. Ze lieten zich gemakkelijk masturberen om zaad te oogsten. Door oefening werd het verkrijgen van zaad van slangen die schijnbaar vruchtbaar waren door op

for these snakes, they have no handling stress or fear of human interaction with them. No masturbated reptiles of any taxa ever attempted to flee or bite.

Masturbation of non-venomoid dangerously venomous elapids is not something that should be attempted, unless the handler is both experienced with the snake species, the snake itself is relatively tame and the handler is happy to countenance the possibility of a potentially fatal bite. For the record, masturbating the snakes did not yield any signs of stress on the snakes. The only obvious variables in behavior noted were the obvious movements downwards of the pelvic (or



Drysdalia coronoides. Foto: Raymond Hoser
Drysdalia coronoides. Photo: Raymond Hoser



het voorste deel van de staart boven de cloaca te wrijven erg gemakkelijk.

Wat betreft het KI-proces was het in theorie moeilijkste gedeelte van de operatie achter de rug. In feite was door de bedachte methode het verkrijgen van zaad een routine. Ze kon worden gedaan bij een niet opgewonden slang die in zijn eentje in zijn verblijf rust. Let op, dat wat betreft de giftige taxa die worden gebruikt, alle dieren goed aangepaste venomoids (zonder gifklieren) zijn, die dagelijks gehanteerd worden (enkel door vrij hanteren) voor live shows. Daarom hebben deze dieren geen stress van het hanteren of angst voor menselijke interactie met hen. Geen enkel reptiel van alle soorten die gemasturbeerd werden, probeerde ooit te vluchten of te bijten. Masturbatie van niet-venomoids, gevaarlijk giftige elapiden is niet iets wat geprobeerd zou moeten worden, tenzij de hanteerder ervaren is met de slangensoort, de slang relatief tam is en de hanteerder blijmoedig de mogelijkheid aanvaardt van een potentieel dodelijke beet. Ter informatie: het masturberen van de slangen leverde geen signalen van stress op bij de dieren. De enige duidelijke variabelen in gedrag die ik opmerkte, waren de duidelijke neerwaartse bewegingen van het bekkengebied (of het equivalent daarvan) van de slang terwijl ze werden gestimuleerd en een erg gestegen frequentie van tongelen als de slangen opgewonden raakten. Het inbrengen van zaad in het vrouwtje gebeurde via de pipet.

Het lijkt erop, dat niet alle slangen de hele tijd zaad produceren. In mijn collectie werd het duidelijk, dat de slangen die het vaakst paarden, de slangen waren die het meeste zaad produceerden. De correlatie hiertussen was direct. Van zes volwas-

equivalent) region of the snake as they were stimulated, and a greatly increased frequency of tongue flicker as the snakes were aroused. Transfer of semen to the female was via the pipette.

Acquiring semen

It seems that not all snakes produce semen all the time. In our collection it became apparent that the snakes that mated most were those that produced most semen. The correlation was direct. In terms of the Tiger Snakes, for which we held 6 adult males as of end 2007, the ones who mated the most all yielded copious amounts of semen readily, while I was unable to get semen from some who rarely showed interest in sex.

Please note that at the time this semen collection was done, the snakes were being held on their own, as we were trying to avoid breeding this taxon as we have trouble of flooding the babies and hence for 2006/7 only one of four females was actually mated (with their mating season also including summer of 2005/6, due to our concern that these snakes store sperm for some time). The same pattern was yielded across other taxa of snakes (elapids and pythons) as well as skinks, from whom we were able to get semen using the same method.

It should be noted however that lizards are far harder to stimulate than snakes due to their increased tail muscularity and other tissue present in the region that apparently makes direct hemipenial stimulation harder. (Please note the extreme care needed with tail shedding taxa to avoid any incidents of autotomy). Notwithstanding this, it was possible to extract semen from all lizard taxa we hold, which includes Cunningham's Skinks (*Egernia cunninghami*), Blotched

sen Australische tijgerslangen, gaven eind 2007 degene die het meest paarden eenvoudig overvloedige hoeveelheden zaad, terwijl me het van enkele dieren die zelden interesse in sex toonden, niet lukte zaad te verkrijgen. Wees u ervan bewust, dat op het moment dat ik het zaad verzamelde, de slangen solitair werden gehouden, omdat ik wilde voorkomen met dit taxon te fokken, omdat het veel moeite kost om van de jongen af te komen. Daarom liet ik in 2006-2007 slechts één van de vier vrouwen paren, inclusief het fokseizoen 2005-2006, vanwege het gegeven dat deze slangen sperma kunnen opslaan voor enige tijd. Andere slangentaxa (zowel elapiden als pythons) leverden hetzelfde patroon op, net als skinks, waarvan we ook zaad van kregen met gebruik van dezelfde methode. Hierbij moet echter worden vermeld dat hagedissen veel moeilijker zijn te stimuleren dan slangen, vanwege hun meer bespierde staart en ander weefsel dat aanwezig is in deze streek, waardoor directe stimulatie van de hemipenes moeilijker is. Let erop, dat extreme voorzichtigheid betracht moet worden bij taxa die hun staart kunnen loslaten, om mogelijke autotomie-incidenten te voorkomen. Desondanks was het mogelijk om zaad af te nemen van alle soorten hagedissen die we houden, waaronder Cunninkham's rotsskinks (*Egernia cunninghami*), gevlekte blauwtongskinks (*Tiliqua nigrolutea*), gewone blauwtongskink (*Tiliqua scincoides*) en denappelskinks (*Trachydosaurus rugosus*). Andere soorten hagedissen konden worden gemasturbeerd in andere faciliteiten, waaronder kleinere skinksoorten, bonte varanen (*Varanus varius*), Gould's varanen (*Varanus gouldi*), baardagamen (*P. barbata* en *P. vitticeps*), Lesueur's wateragamen en ruwe fluweel-

Bluetongues (*Tiliqua nigrolutea*), Eastern Bluetongues (*Tiliqua scincoides*) and Shinglebacks (*Trachydosaurus rugosus*). Other lizards were able to be masturbated at other facilities to yield semen to be used for insemination including smaller skink species, Lace Monitors (*Varanus varius*), Gould's Monitors (*Varanus gouldi*), Bearded Dragons (*P. barbata* and *P. vitticeps*), Gippsland Water Dragons and Robust Velvet Geckos (*Oedura robusta*).

Assuming the reptile (snake or lizard) is tractable, we found the best method to acquire semen was to simply hold the reptile in a way that is comfortable for it and to rub the hemipenal area (near the vent) with one finger with moderate speed. You will know the reptile is stimulated as it pushes that region downwards, to give the angled position of vent region as seen as a snake attempts to copulate a female in the 'natural' way. Most snake keepers are familiar with this positioning. While the male may evert a hemipene if stimulated, as a rule this does not occur, and it is not necessary for semen extraction. For reasons not completely certain, snakes (and lizards) will ejaculate semen while the hemipenes remain retracted in the tail. Hemipenal plugs and dried feces may be shed and this should be disregarded (discarded). On some occasions, dried fecal matter may be around the cloacal region and this should be cleaned away with a wet cloth before masturbating the snake so as to ensure a 'clean' semen sample is obtained. As a rule, if the snake has semen, it should yield it within 60 seconds. Cooler snakes take longer to yield semen than warmer ones. The same applies for lizards, albeit on a slower timeline, although smaller taxa yield semen faster. As a rule there is no need to check semen under a microscope for viability.





gekko's (*Oedura robusta*). Aannemend dat het reptiel (slang of hagedis) handelbaar is, vonden wij dat de beste methode om zaad te verkrijgen bestond uit het simpelweg vasthouden van het dier op een manier die comfortabel is voor het dier en met één vinger en middelmatige snelheid te wrijven in de streek rond de hemipenes, nabij de cloaca. Je merkt dat het reptiel gestimuleerd is, wanneer het dat gebied naar beneden drukt om de schuine, gekromde positie van het gebied rond de cloaca aan te nemen zoals te zien is wanneer een slang probeert met een vrouwtje te copuleren op de natuurlijke manier. De meeste slangenhouders zijn bekend met deze houding. Hoewel het mannetje een hemipenis wel naar buiten kan keren wanneer hij wordt gestimuleerd, gebeurt dit in de regel niet en het is ook niet nodig voor extractie van zaad. Om niet geheel duidelijke redenen, zullen slangen (en hagedissen) zaad ejaculeren, terwijl de hemipenes teruggetrokken blijven in de staart. Zaadpluggen en gedroogde faeces kunnen afgeworpen worden met de vervelling. Die kan weggegooid worden. In sommige gevallen kunnen er gedroogde faecesresten rond de cloaca zitten. Die moet dan worden schoongemaakt met een nat doekje voor het masturberen van de slang om er zeker van te zijn dat een schoon zaadmonster wordt verkregen. Als regel zou de slang, als hij zaadvoorraad heeft, die binnen 60 seconden moeten prijsgeven. Koelere slangen doen er langer over om te ejaculeren dan warmere slangen. Hetzelfde geldt voor hagedissen, zij het over een langere tijdsspanne, hoewel kleinere soorten sneller zaad prijsgeven dan grotere. Als regel is het niet nodig zaad onder de microscoop te controleren op levensvatbaarheid. Indien de slangen of hagedissen

If the snakes or lizards have been cooled over winter according to the regime we use (see above), viable sperm seems to be a formality for almost all taxa, save for the inevitable small percentage that will never be fertile. As part of the perfectionist system here, semen was checked under a microscope and images sent to Dr. Barrymore Walters, an expert whose day job involves human vasectomy's and microscopic inspection of semen samples. While snake semen is different to that of human, he seemed to think what I sent him was OK and his judgment later proved correct.

Semen from the semen plugs in snakes was checked and found to be clumped, which is typical of dead and non-viable semen, indicating that snake semen does have a limited 'shelf life' although it is hard to ascertain what that is. As a rule, if a snake yields semen from one hemipenal pocket, it will yield from both and I found that the best way to collect semen was to masturbate both sides so the semen sat either just inside or just outside the ventral scale, form where it can easily be sucked into a capillary tube. As a rule, one tube is used for each side, enabling two lots to be gathered at a time. Often the hemipenal region is massaged to assist in bringing the semen towards the vent for collection.

As a rule, it takes 5-7 days for a snake that has yielded semen to be able to regenerate semen again. As a rule, snakes do not yield semen in smaller amounts when an attempt is made to extract semen in a period under the 5-7 regeneration period. Instead the snake yields nothing. In other words semen seems to be yielded in distinct 'loads'. The semen that is viable and used is not the hardened material seen in dried hemipenal

gekoeld zijn in de winter door middel van het temperatuurregime dat wij gebruiken (zie boven), lijkt levensvatbaar sperma standaard te zijn voor vrijwel alle taxa, uitgezonderd het onvermijdbare kleine percentage dat nooit vruchtbaar zal zijn. Als onderdeel van het perfectionistische systeem hier, werd zaad gecontroleerd onder een microscoop en werden foto's daarvan opgestuurd naar Dr. Barrymore Walters, een expert wiens dagelijkse werk humane vasectomie en microscopische inspectie van zaadmonsters inhoudt. Hoewel zaad van slangen verschilt van dat van mensen, vond hij hetgeen ik hem toezond er prima uitzien. Zijn oordeel bleek later correct. Zaad uit zaadpluggen van slangen werd gecontroleerd en hier werden samenklonteringingen gevonden, wat typerend is voor dood en niet levensvatbaar zaad. Dit is een indicatie dat zaad van slangen een beperkte houdbaarheid heeft, hoewel het moeilijk is daar meer duidelijkheid over te krijgen. Als regel kan men aannemen, dat een slang ook zaad zal prijsgeven uit beide hemipeneszakken, als hij dat doet uit één hemipeniszak. Ik merkte dat de beste manier om zaad te verzamelen was om beide kanten te prikkelen, zodat het zaad ofwel net binnen of net buiten de ventrale schub verscheen, waarna het gemakkelijk in een capillair buisje gezogen kan worden. Als regel wordt er één buisje gebruikt per kant, om het mogelijk te maken per slang per keer twee eenheden te verzamelen. Vaak masseerde ik het gebied bij de hemipenes om te helpen het zaad naar de cloaca te brengen voor afname.

Normaal kost het een slang waarbij zaad is afgenomen, vijf tot zeven dagen om weer zaad te regenereren. Normaliter geeft de slang geen zaad in kleinere hoeveelheden

semen plugs. Instead it is the milky white material that is obviously yielded at the time of masturbation and as an obvious result of it. To give an idea of the quantity, it is best to view a photo.

Sometimes masturbation of a snake will yield a semen plug followed by good whitish semen. In this situation the latter (whitish) material, should be used only. Interestingly high sex drive snakes will still attempt to mount and mate females after being taxed of semen. This is interesting because as a rule, once I have extracted a single load of semen from each hemipene, I am unable to repeat the process until the 5-7 recharge period has elapsed. An important question to ask, is whether or not a snake that mates immediately after I've taxed it for semen is still able to pass viable semen (sperm) to a female at that time.

Refining the method of semen transfer

Aviculturists who do AI with birds said that they'd simply suck semen into the pipette and then place it into the ventral opening of the bird and blow out the semen inside the bird. They said in most cases, the spermatozoa did the rest and conception was the rule. The same was done with the snakes, and we now know the same to be true for them as well. However sometimes the semen was too viscous to be able to be blown out of the tube with success. I then found myself trying to blow out the semen without success and had to remove the tube from the uninseminated snake. Narrower tubes were even harder to utilize than the originals and for the wider ones other issues arose, mainly in terms of sucking up the semen and then being able to blow it out, as opposed to just air. You see unless the semen blocks the tube, it will give a pathway for air





wanneer een poging wordt gedaan binnen de vijf tot zeven dagen regeneratieperiode zaad te extraheren. In plaats daarvan geeft de slang in het geheel geen zaad. Met andere woorden, zaad lijkt te worden prijsgegeven in duidelijk onderscheiden ladingen. Het zaad dat levensvatbaar is en gebruikt wordt, is niet het harde materiaal dat gezien wordt in gedroogde zaadpluggen. In plaats daarvan is het het melkachtig witte materiaal dat duidelijk wordt prijsgegeven op het moment van masturbatie en als een duidelijk resultaat daarvan. Om een idee te geven van de hoeveelheid, is het het beste om een foto te bekijken. Soms wordt bij het masturberen een zaadplug geoogst, gevolgd door witachtig goed zaad. In deze situatie zou alleen het laatste (witachtige) materiaal gebruikt moeten worden. Opmerkelijk genoeg zullen slangen met een hoge geslachtsdrift nog steeds proberen vrouwtjes te beklimmen en met ze te paren nadat het zaad is afgenomen. Dit is interessant, omdat ik er in de regel, nadat ik een slang een enkele lading zaad heb afgenomen, niet meer in slaag dit proces te herhalen, totdat de periode van vijf tot zeven dagen voorbij is. Een belangrijke vraag om te beantwoorden, is of een slang die paart onmiddellijk nadat ik zaad heb afgenomen, op dat moment nog steeds levensvatbaar zaad door kan geven aan een vrouwtje.

Het verfijnen van de overplaatsingsmethode van zaad

Aviculturisten die KI bij vogels toepassen, zeiden dat ze simpelweg zaad in de pipet zuigen en deze dan in de cloacaopening van de vogel plaatsen en het zaad uit de pipet in de vogel blazen. Ze zeiden dat in de meeste gevallen de spermatozoa de rest deden en er in de regel conceptie plaatsvond. Deze manier heb ik ook op slangen toegepast en we weten nu dat hetzelfde ook voor hen geldt.

to simply blow past it. Due to the nature of the human mouth, it was far easier to suck fluid into the tube than blow it out. Hence the occasional difficulty of blowing the semen out of the tube into the female snake. So the logistical problem had become how



*Eastern Brown Snakes. Foto: Raymond Hoser
Eastern Brown Snakes. Photo: Raymond Hoser*

Soms was het zaad echter te kleverig om succesvol uit het buisje geblazen te kunnen worden en moest ik het buisje verwijderen uit de niet-geïnsemineerde slang. Smallere buisjes waren nóg moeilijker te gebruiken dan de oorspronkelijke buisjes, en de wijdere hadden weer andere problemen, vooral wat betreft het opzuigen en daarna weer kunnen uitblazen van zaad in plaats van alleen lucht. Behalve wanneer het zaad het buisje volledig blokkeert, zal het een weg geven waardoor de lucht er gewoon langs geblazen kan worden. Dankzij de aard van de menselijke mond was het veel gemakkelijker om zaad in het buisje te zuigen dan om het er weer uit te blazen. Vandaar dat het af en toe moeilijk was het zaad uit het buisje in de vrouwelijke slang te blazen. Dus het logistieke probleem was geworden, hoe je snel en effectief het zaad in het vrouwtje kon krijgen.

De afdoende methode die ik heb ontwikkeld, was om het mannetje zover te krijgen zijn zaad prijs te geven. Op dat moment wordt het capillaire buisje in water geplaatst tot het punt waarop een klein beetje water naar binnen gezogen wordt. Soms gebeurt dit automatisch en soms moet je dit doen door voorzichtig te zuigen. Water is minder kleverig dan zaad en men weet ook dat het er onschadelijk voor is. Vervolgens wordt zaad in het buisje gezogen en daarna een klein beetje extra water, zodat het zaad in het buisje effectief aan beide kanten bedekt is met water. Door voorzichtig aan één van beide einden te zuigen, zul je het zaad heen en weer kunnen bewegen in het buisje. Wanneer je eenmaal bent aangekomen op het punt waarop je het zaad met relatief gemak op en neer kunt bewegen door in het buisje te blazen, ben je klaar om het vrouwtje te insemineren. De cloacaopening wordt voldoende ver geopend om het buisje door

to quickly and effectively get the semen into the female snake.

The superior method developed was to get the male snake to the stage of yielding semen. At that point the capillary tube is placed in water to a point where a small amount of water is sucked in. This sometimes occurs automatically and other times you may need to do this by careful sucking. Water is less viscous than semen and also known to be harmless to it. Semen is then sucked into the tube and then a small amount of extra water, making the semen effectively inside the tube padded by water on either side. By carefully sucking either end of the tube, you will be able to move the semen back and forth in the tube. Once you get to the stage where the semen is easily moved, you should attempt the same by blowing. Once you get to the stage where you can move the semen up and down by blowing the tube, and with relative ease, you are ready to inseminate the female. The cloacal opening is opened sufficiently to allow the tube to pass through. Usually this is simple, but if it is dry and tight, lubrication with water will solve the problem. In summary the tube is inserted to a depth of just under about 3.8 cm in a 151 cm long snake and the tube blown to leave the semen in the female.

You will know that the semen is inside the snake when you notice the air back-up (from you) going into the snake, at which point the tube is removed and the vent held shut. Assuming this is done properly, the semen will remain in the snake and make it's way to the appropriate part of the female to fertilize ova or eggs. In terms of the insemination of the female, there are other important pointers and notes. The tube will





te laten. Gewoonlijk is dit eenvoudig, maar als het droog en krap is, zal bevochtigen met water het probleem oplossen. Kort samengevat wordt het buisje naar binnen geschoven tot een diepte van net onder ongeveer 3,8 cm bij een 151 cm lange slang, en leeggeblazen om het zaad in het vrouwtje achter te laten. Je weet dat het zaad in de slang is achtergebleven wanneer je merkt dat je reservelucht in het buisje de slang ingaat. Op dat moment verwijder je het buisje en hou je de cloacaopening dicht. Er vanuit gaande dat dit op een goede manier is gebeurd, zal het zaad in het vrouwtje blijven en zich een weg banen naar het juiste orgaan van een vrouwtje om eitjes te bevruchten.

Voor wat betreft de inseminatie van het vrouwtje zijn er nog belangrijke aanwijzingen en opmerkingen. Het buisje zal tegen een schijnbare (het weefsel is zacht) blokkering opbotsen wanneer het naar voren geduwd wordt. Om een indicatie te geven van de diepte van de blokkering: deze zou ongeveer 3,8 cm diep in de slang moeten liggen als de slang een totale lengte heeft van 151 (waarvan 18 cm staart en 133 cm kopromplengte). Tegen deze blokkering mag niet worden geduwd of druk op worden uitgeoefend en het buisje moet een paar milimeter teruggetrokken worden van de blokkering. Deze maten zijn belangrijk, omdat ze naar ratio naar boven of naar beneden kunnen worden geëxtrapoleerd voor grotere of kleinere slangen. Ze geven een indicatie van wat kan worden verwacht qua penetratiediepten. Als je een blokkering vindt op een plek substantieel eerder dan de aangegeven afstand, dan zal dat veroorzaakt worden door faeces die op het punt staan om uitgescheiden te worden. Die zullen verwijderd moeten worden alvorens inseminatie te proberen. Hieronder leg ik uit

hit an apparent (soft tissue) 'block' when pushing in an anterior direction. To give an indication as to the approximate depth of the 'block' it should be about 3.8 cm into the snake if it's a 151 cm total length snake (18 cm tail and 133 cm snout vent). This should not be pushed or pressured and the tube pulled back a few mm from this 'block' point. These measurements as given here are important as they can be scaled pro-rata up or down for larger or smaller snakes to give an indication as to likely and expected penetration depths.

If you find a 'block' a substantially earlier than the indicated distance, then it will be caused by fecal material ready to be expelled. This should be removed before attempting insemination (see elsewhere in this paper for an explanation as to how this is done) in a manner that is simple and painless for the snake. Assuming no fecal material in the relevant part of the snake then the insemination of the snake should be routine and trouble free, and success for the procedure assumed likely. If there is trouble getting the semen to be blown into the female, it is often easier to blow and withdraw the tube at the same time. The backward movement creates a gap (void), which then creates a vacuum to suck out the semen sample. When doing this, you may accidentally release semen either at the vent opening or even outside the snake. If this happens, the semen (which usually presents as a sort of line of fluidy gunk), can usually be sucked back into the tube and the whole insemination process repeated.

Another mishap that occurs occasionally is that you may suck in semen to your mouth

hoe dit gedaan kan worden op een manier die eenvoudig is en pijnloos voor de slang.

Aangenomen dat er geen faeces in het betreffende gedeelte van de slang aanwezig zijn, zou haar inseminatie routine moeten zijn, probleemloos moeten verlopen en succes opleveren. Als er problemen zijn om het zaad in het vrouwtje geblazen te krijgen, is het vaak gemakkelijker om tegelijkertijd te blazen en het buisje terug te trekken. De achterwaartse beweging creëert een leegte die vervolgens een vacuüm creëert dat het zaad eruit zuigt. Wanneer je dit doet, kun je per ongeluk zaad kwijtraken, ofwel bij de cloacaopening, ofwel zelfs buiten de slang. Als dit gebeurt, kun je het zaad, dat er gewoonlijk uitziet als een soort lijn van vloeibare smurrie, terugzuigen in het buisje en het gehele inseminatieproces herhalen.

Een ander ongelukje dat vaak gebeurt, is dat je zaad je mond inzuigt en dan uitspuugt. Ook dan kan het vaak nog gebruikt worden. Hoewel niets van dit alles steriel is en er een duidelijke overdracht van micro-organismen plaatsvindt, heeft geen enkele slang die op deze manier werd geïnsemineerd, ooit tekenen van ziekte vertoond. Overigens is het zo, dat de cloacaopening van reptielen bij normaal kruipen over dingen ook aan ziektekiemen is blootgesteld. Dit wordt niet gezien als iets om je zorgen om te maken.

Als het zaadmonster achteruit is gegaan in kwaliteit of is kwijtgeraakt vóórdat het geïnsemineerd is bij het vrouwtje, dan kan het tweede monster dat is afgenomen, worden gebruikt. Als alles volgens de theorie verloopt, is het mogelijk op één dag twee slangen te insemineren met zaad van één slang. Dit alles geldt mutatis mutandis voor hagedissen.

Wordt vervolgd.

and then spit it out. Often this can be re-used as well. While none of this is sterile and there is an obvious germ transmission, no snakes inseminated this way have ever shown signs of illness and noting that reptiles cloacal openings are exposed to these germs in the normal course of crawling over things, this is not seen as an issue worth worrying about. If the semen sample is degraded or lost before being implanted into the female, then the second one obtained, can be used. Alternatively if all runs to the theory and plan, it becomes possible to inseminate two snakes from one snake on one day. The same as just described applies to lizards.

To be continued.

