

OVER HET SKELETTEREN VAN KLEINE ZOOGDIEREN

A. VAN WIJNGAARDEN en H. DE VRIES.

(Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen)

Wanneer men een collectie van skeletten wil aanleggen, hetzij in verband met een systematisch of genetisch onderzoek, hetzij met het oog op een populatiestudie, wordt men voor het probleem gesteld om in korte tijd een groot aantal skeletten uit te prepareren. Dit was de reden, dat wij de verschillende manieren, waarop dit kan geschieden, naast elkaar op hun bruikbaarheid hebben onderzocht. In het bijzonder werd gezocht naar een techniek, waarmee de tere schedeltjes van kleine zoogdieren in korte tijd en met een minimum aan arbeid konden worden gereinigd.

Alle tot nu toe bekende technieken, met hun voor- en nadelen, zullen wij hier in het kort de revue laten passeren, terwijl wij even langer zullen stilstaan bij die techniek, die ons het meest geschikt leek; nl. het prepareren van skeletten met behulp van spekkeverlarven.

1. *Het uitprepareren met de hand.*

Al dan niet gecombineerd met opkoken was dit de eerste beproefde techniek. De tijd, die het schoonprepareren van een schedeltje vroeg, was echter zo lang, dat wij al spoedig van deze werkwijze afzagen. Een ander groot nadeel hierbij was, dat fijne uitsteekseltjes van schedels, vooral van jonge dieren, gemakkelijk worden beschadigd.

2. *Maceratie.*

a. *Met behulp van rottingsbacteriën.*

Werkwijze: Het dier villen, ingewanden en grote stukken vlees verwijderen, de rest in een jampotje met water plaatsen; dit

water regelmatig voorzichtig afgieten en verversen, totdat alle vleesresten van de beenderen zijn gerot. Tenslotte drogen na eventueel bleken in waterstofperoxyde.

Deze techniek wordt dikwijls toegepast, hoewel er enkele grote bezwaren aan kleven. Wil het rottingsproces enigszins snel verlopen, dan moet de temperatuur niet te laag zijn; het beste verloopt dit proces in een thermostaat bij 37 °C. Men kan zich echter voorstellen dat hierbij een enorme stank ontstaat, vooral wanneer men op grote schaal werkt. Een tweede bezwaar is, dat de kiezen in de schedels los gaan zitten en daardoor gemakkelijk verloren kunnen gaan bij het regelmatig afschenken van de vloeistof. Ook gaan de schedelnaadjes vaak wijken, wat het verrichten van exacte metingen aan de schedel onmogelijk maakt. Een derde bezwaar is, dat de schedels dikwijls een zwarte kleur krijgen, die zelfs na lang bleken niet geheel verdwijnt. De schedels zijn dan minder geschikt voor demonstratiecollecties. Tenslotte bleek het vrijwel onmogelijk om ingedroogde karkassen of exemplaren, die lange tijd in alcohol of formaline hadden gelegen, op deze wijze schoon te krijgen. Er bleven altijd veel resten aan de beenderen over, die met de hand verwijderd moesten worden.

b. *Met behulp van ammoniumcarbonaat.*

Door Cantuel is een techniek beschreven, waarmee het vlees van de skeletten verwijderd kan worden met behulp van ammoniumcarbonaat.

Werkwijze. Het dier villen en voor het

grootste deel ontvlezen, de hersenen verwijderen met een waterstraaltje; de rest 3-6 dagen in koud water laten liggen, het bloed trekt er dan uit en de skeletten worden witter. Water aan de kook brengen, de schedel erin doen met 5 gewichtsprocenten ammoniumcarbonaat.

Hierna koken: spitsmuizen 3-4 minuten, veldmuizen 7-8 minuten, woelratten 12-15 minuten, vos 20-25 minuten. Tenslotte drogen. Deze techniek is vrij bewerkelijk. Bovendien, wanneer men iets te lang doorkookt, vallen de schedels volkomen uit elkaar.

c. *Met behulp van natriumperboraat.*

Een analoge methode is door Roche beschreven; hierbij wordt van natriumperboraat gebruik gemaakt.

d. *Met behulp van papaïne.*

Door Luther is een techniek ontwikkeld, waarbij gebruik gemaakt wordt van het proteolytische enzym papaïne.

Werkwijze: Het dier villen, ingewanden en het vlees zoveel mogelijk verwijderen; de rest ongeveer 10 minuten koken, afkoelen, daarna gedurende 12 uur in een stevig afgesloten flesje met 100 cc van een verse 1 procent papaïne-oplossing bij een temperatuur van 37 °C zetten. Daarna weer 2 minuten koken in een bekersglas, vervolgens de inhoud in een petrischaaltje doen, het water steeds afgieten en ververset, totdat men de schone skeletdelen overhoudt. Dit proces duurt ongeveer 24 uur.

Deze techniek is door ons niet op zijn bruikbaarheid onderzocht. De vele manipulaties maken immers, dat de kans op het wegraken van onderdelen zeer groot is. Bovendien zal de stank (vooral bij de tweede maal opkoken!) zeker niet minder zijn dan bij de normale maceratie.

3. *Afknagen door insecten.*

Een volkomen andere wijze van skeletteren van dieren past men toe, wanneer men gebruik maakt van verschillende insecten. De in de natuur voorkomende aaskevers (Silphidae) hebben wij in dit verband niet geprobeerd. Het verzamelen van voldoende dieren bleek zeer tijdrovend te zijn, terwijl wij over het kweken van deze kevers in de literatuur geen gegevens konden vinden. Ook aan de techniek van het ingraven van de te skeletteren dieren in nesten van de Rode bosmier (*Formica rufa* L.) gingen wij voorbij, daar deze aan het seizoen gebonden is. Bovendien leek ons ook hier de kans op weg- of door elkaar raken van de skeletdelen te groot.

a. *Met behulp van kakkerlakken (Periplaneta americana L.).*

Omdat het bij kweken van kakkerlakken herhaaldelijk voorkomt, dat de dieren soortgenoten met huid en haar opeten, leek

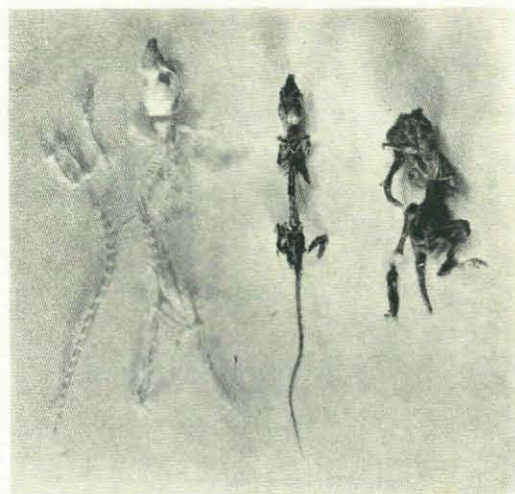


Fig. 1. Woelratten, dezelfde tijd „bewerkt” door v.l.n.r. *Dermestes maculatus* Deg. *Tenebrio molitor* L. en *Periplaneta americana* L. (Bij de laatste is de schedel niet aangeboden). Foto P.D.

het ons niet onmogelijk, dat ze ook andere diersoorten zouden consumeren. Dit bleek inderdaad het geval te zijn, doch de vraatzucht van de kakkerlakken bleek zo groot, dat ze, als ze eenmaal aan een bepaald deel van het te skeletteren karkas begonnen waren, hieraan ook dooraten, bot of geen bot. Poten en staarten werden radicaal afgeknaagd, terwijl elders het vlees bleef zitten (fig. 1). Het resultaat is dus, dat er letterlijk niets overblijft. De kakkerlakken verdwenen derhalve weer spoedig uit ons laboratorium.

b. *Met behulp van meelwormen (Tenebrio molitor L.).*

Deze, overal gemakkelijk te verkrijgen dieren werden door Allen en Neill met succes gebruikt bij het schoonmaken van skeletten. Volgens deze auteurs is het grote voordeel van meelwormen boven spekkevers, dat bij ontsnappen geen infectie van een verzameling kan plaats vinden. De door ons opgezette proeven met deze dieren vielen echter niet zo gunstig uit. Het afknagen ging zeer langzaam en bovendien werden doornuitsteeksels van wervels, ribben, kammen en jukbogen van de schedel, teenkootjes e.d. ook opgegeten (fig. 1). Ook deze techniek werd door ons dus weer snel verlaten.

c. *Met behulp van spekkevers (Dermestes-soorten).*

Reeds in 1879 schijnt op de mogelijkheid gewezen te zijn om spekkevers, en wel speciaal *Dermestes maculatus* Deg. (= *Dermestes vulpinus* F.) voor het skeletteren te gebruiken (anon. in Hinton). In Amerika heeft deze techniek de laatste jaren vele enthousiaste voorstanders gekregen (Borell, Hall en Russel, Hooper, Laurie en Hill, Vorhies). In Nederland is hij door Meeuse ten behoeve van het Rijksmuseum van Natuurlijke Historie uitgewerkt. Op

de duur had men hier echter niet veel succes met de spekkevers.

Met dezelfde stam is in ons laboratorium verder geëxperimenteerd en een routine-techniek ontwikkeld voor het skeletteren van woelrat- en veldmuisschedels.

De door ons gebruikte spekkevers (*Dermestes maculatus* Deg.) zijn lang-ovale kevertjes, die maximaal 5 mm lang zijn en een bruine tot zwarte kleur hebben. Op de buikzijde is vooral het achterlijf bezet met witte haartjes. De larven zijn grijsbruin en langbehaard. In de natuur is *Dermestes maculatus* gevonden in ingedroogde resten van dode zoogdieren, vogels en vissen. De soort is cosmopoliet. Daarnaast is het een algemeen voorkomend insect in opgeslagen voorraden beenderen, huiden, ham, spek, kaas, hoorn, veren, bonen, cacao en leer. Afgezien van de grote schade, die zij hierin direct aanrichten door vreterij, zijn zij bovendien zeer schadelijk, omdat de larven zich vóór het verpoppen inknagen in hard materiaal in de omgeving. Dit kan karton of hout (vloerplanken bv.) zijn. Er is een geval bekend van een schip, dat bijna gezonken was, omdat het op grote schaal doorboord was door Dermestiden-larven, afkomstig uit een lading huiden; zelfs een geval van inknagen in lood is beschreven. Voor deze gevallen en voor een verdere uitvoerige beschrijving van deze dieren mogen wij verwijzen naar Hinton.

Hier zullen wij nog slechts in het kort enige biologische bijzonderheden memoreren (zie ook Gabel en Russell).

Onder optimale omstandigheden begint de spekkever 5 dagen na het uit de pop komen eieren te leggen. Dit kan zelfs 100 dagen achter elkaar doorgaan, waarbij 426 eieren zijn geteld. De eieren komen na 3 dagen uit. De larven beginnen, na ongeveer 6 vervellingen en een snelle groei,

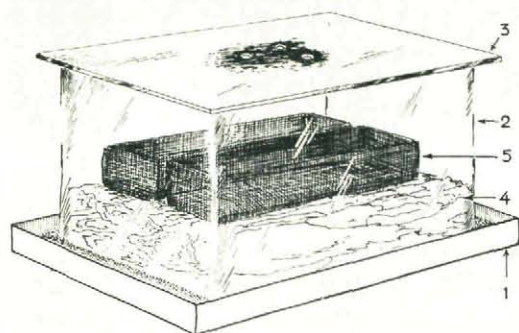


Fig. 2. De huisvesting van een *Dermestiden*-kweek. 1. zinken bakje met vloeibare paraffine. 2. glazen aquariumbak $30 \times 16 \times 16$ cm. 3. glazen afdekplaat met gaten, beveiligd met vaseline. 4. stukken turf, stukje watten. 5. bakje met vliegengaas.

na 25 dagen zich in te graven. Dit is absoluut noodzakelijk, willen zij niet in het popstadium door soortgenoten opgegeten worden. 5 Dagen later verpopt de larve zich; de holingang wordt met de laatste larvehuid afgesloten. Na 7 dagen komen de kevers te voorschijn.

De totale cyclus duurt dus onder optimale omstandigheden 45 dagen. Voor het kweken van deze dieren zijn door de reeds genoemde auteurs vele, enigszins van elkaar afwijkende technieken beschreven. In ons laboratorium worden de dieren in het donker, in een thermostaat bij ongeveer 27°C gehouden. De relatieve vochtigheid wordt niet geregeld, wel werd er een vochtig stukje watten in de kweek gelegd. De dieren leven in glazen aquaria van $30 \times 16 \times 16$ cm (fig. 2), die in platte zinken bakjes zijn geplaatst, waarin zich vloeibare paraffine bevindt. Eventueel ontsnappende dieren vinden hierin hun einde. De glazen bakken zijn van boven afgesloten met glazen platen, waarin een paar gaten zijn geboord. Rondom en in deze gaten is dik vaseline gesmeerd om ontsnappen te voor-

komen. In de bakken bevindt zich een flinke laag van stukken turf op de bodem om de dieren gelegenheid te geven eieren te leggen en zich in te graven voor het verpoppen. Op deze turf staan enkele bakjes, die uit vliegengaas zijn gemaakt en waarin de te skeletteren kadavers worden gelegd, voorzien van de bijbehorende labeltjes.

De kadavers, die de *Dermestiden* werden aangeboden, ondergingen de volgende „voorbehandeling”. Daar de meeste tijdelijk in alcohol, d.w.z. brandspiritus, bewaard waren, werden ze twee dagen in stromend water gelegd om de alcohol er wat uit te laten trekken. Daarna werden ze onder een afdakje op een stuk gespannen kippengaas gelegd en in de wind gedroogd en vervolgens in een kartonnen doos bij de ketel van de centrale verwarming gezet, totdat ze volkomen droog waren.

De gedroogde kadavers worden, met huid, haar en ingewanden en natuurlijk hun metalen label, in de genoemde vliegengazen bakjes in de spekkevercultuur gezet. Na 4 à 5 dagen is een volwassen woelrat volkomen schoongegeten. Slechts de ingedroogde resten van de ingewanden blijven achter. Als de skeletten schoon zijn, worden de aquariumbakken in het licht gezet, waardoor verreweg de meeste *Dermestiden* zeer snel onder de turf verdwijnen, omdat zij namelijk uitermate lichtschuw zijn. Dan worden de botjes met een pincet uit de bakjes gehaald, wat zeer eenvoudig gaat, omdat de samenhang van het skelet nog niet geheel verbroken is. De beenderen worden in waterstofperoxyde (0.15 %, met enkele druppels geconcentreerde ammonia) gebleekt. Tevens worden hierdoor de eventueel achtergebleven spekkeverlarfjes gedood. Na het drogen zijn de skeletjes gereed om opgeborgen te worden. Een door Hooper gemaakte tijdstudie

toonde, dat een op deze wijze geskeletteerd schedeltje ongeveer 6 minuten menselijke arbeid vergde. Een ander groot voordeel is, dat er totaal geen beschadigingen voorkomen. Wanneer men alleen een aantal kleine larven gebruikt, kan men zelfs het skelet van Dwergspitsmuizen en Dwergmuizen schoon krijgen en wel zonder enige beschadiging (zie fig. 3). Met het prepareren door mensenhanden is dit onmogelijk te bereiken.

Een nadeel van de Dermestiden-methode is in de eerste plaats, dat men over een voldoende ruime termostaat moet kunnen beschikken om de kweek op de vereiste temperatuur te houden. Een tweede groot nadeel is de mogelijkheid van ontsnappen van de dieren, die daarna bv. een huidencollectie zouden kunnen infecteren. De



Fig. 3. Demonstratiepreparaat van een dwergmuisskelet, afgeknaagd door kleine Dermestes-larven, daarna in plastic ingegoten. Prep. J. v. d. Peppel. Foto P.D.

Litteratuur:

- Allen, R. E. en W. T. Neill, 1950, Cleaning mammal skeletons with meal worms. Journ. Mammal. 31 : 464.
Borell, A. E., 1938, Cleaning small collections of skulls and skeletons with Dermestid beetles. Journ. Mammal. 19 : 102-103.

door ons getroffen veiligheidsmaatregelen zijn tot op heden echter voldoende gebleken.

Van de talrijke, in Hinton genoemde parasieten van de Dermestiden, is in kweken weinig te merken. Er is een geval beschreven door Doetschman van een infectie met mijten (*Pediculoides ventricosus* Newport), die het uitsterven van een kweek tengevolge had.

Tenslotte zij nog vermeld, dat men de kweken niet te vaak schoon moet maken en dat men de Dermestiden bij gebrek aan voldoende arbeidsgelegenheid gemakkelijk met stokvis in leven kan houden. Tegen hongeren zijn ze buitengewoon slecht bestand.

4. Afknagen door zoetwaterkreeften.

Ter completering dienen wij nog de door Sealander en Leonard beschreven techniek te noemen. Deze lieten de te skeletteren dieren schooneten door een Amerikaanse soort zoetwaterkreeft, een dier dat ook in de natuur zich vaak met aas voedt.

Résumé

Titre : La squelettisation de petits mammifères.

Des techniques différentes pour squelettiser de grandes séries de petits mammifères sont comparées.

L'emploi de Dermestides a prouvé être la technique demandant le minimum de travail et donnant les meilleurs résultats.

La méthode employée dans notre laboratoire pour la culture de ces animaux est décrite en détails.

- Cantuel, P., 1949, Préparation rapide de pièces ostéologiques. *Mammalia* 13 : 100-103.
- Doetschman, W. H., 1947, An acarid infestation of Dermestid larvae. *Journ. Mammal.* 28 : 299.
- Gabel, H. H. Beitrag zur Kenntnis der Biologie des Speckkäfers, *Dermestes vulpinus* F. *Zts. Angew. Ent.* 37 : 153-192.
- Hall, E. R. en W. C. Russel, 1933, Dermestid beetles as an aid in cleaning bones. *Journ. Mammal.* 14 : 372-374.
- Hinton, H. E. 1945, A monograph of the beetles associated with stored products I. Londen 433 pp.
- Hooper, E. T., 1950, Use Dermestid beetles instead of cooking pots. *Journ. Mammal.* 31 : 100-102.
- Laurie, E. M. O. en J. E. Hill, 1951/52, Use of Dermestid beetles for cleaning mammalian skeletons. *The Museum Journ.* 51 : 206-207.
- Luther, P. G., 1949, Enzymatic maceration of skeletons. *Proc. Linn. Soc. London* 161 : 146-147.
- Meeuse, A. D. J., 1951, De natuur is sterker dan de leer. *T.N.O.-Nieuws* 6 : 266-268.
- Roche, J., 1954, Préparation des pièces ostéologiques. *Mammalia* 18 : 420-422.
- Russell, W. C., 1947, Biology of the Dermestid beetle, with reference to skull cleaning. *Journ. Mammal.* 28 : 284-287.
- Sealander, J. A. en R. G. Leonard, 1954, Use of crayfish for cleaning skeletal material. *Journ. Mammal.* 35 : 428-429.
- Vorhies, C. T., 1948, A chest of Dermestid cleaning of skulls. *Journ. Mammal.* 29:188-189.

VRAGEN EN KORTE MEDEDELINGEN

Enige vondsten van paddestoelen op Terschelling in de zomer 1955. Tijdens mijn verblijf in het Biologisch Station „Schellingerland” viel me de uitgesproken armoede aan paddestoelen in de omgeving op. Uit de meteorologische waarnemingen bleek, dat slechts op 7 en 8 aug. veel neerslag viel; verder heerste er, afgezien van enige kleine buien, steeds droog, zonnig, warm tot heet zomerweer. Dit zal wel de oorzaak zijn van het ontbreken van een rijke paddestoelenflora.

De volgende macro-myceten werden gevonden:

1. Ruitjes-bovist (*Calvatia caelata* Bull.). Op 18 aug. werden twee jonge exemplaren gevonden in het Witduun in het reservaat de „Boschplaat”. Bovendien vond ik tamelijk veel oude steriele voetstukken, die waarschijnlijk ook tot deze soort behoren.

2. Weide-champignon (*Psalliota campestris* L.). 19 aug. kreeg ik zes exemplaren van alle leeftijds-klassen voorgelegd met de vraag naar de eetbaarheid ervan. De paddestoelen werden op veeweiden tussen Oosterend en Hoorn gevonden.

3. Scharlaken wasplaat (*Hygrocybe miniata* Fr.). Tussen 20 aug. en 3 sept. werden verscheidene groepen van deze soort langs een paadje 300 tot 500 m van het Biologisch Station dagelijks waargenomen; een tweede groei-plaats (door Mej. Dr Schotsman gevonden) lag in een vochtige duinheide op de Dazenplak. Hier bevonden zich 100-200 wasplaten in alle leeftijds-klassen.

4. Zadelzwam (*Polyporus squamosus* Huds.). Op 27 aug. drie fraaie exemplaren op een levende iep.

Bovendien vond ik enige *Inocybe*- en *Psathyrella*-soorten, waarvan een juiste determinatie niet mogelijk was.

Munster, Westfalen

A. RUNGE.

De Stormmeeuw als eierrover. De Zilvermeeuwen worden algemeen in de gaten gehouden als rovers van eieren en jonge vogels. Zij worden daarom dan ook terecht uit de nabijheid van broedkolonies van Kluten, sterns enz. geweerd.

De Stormmeeuwen hebben in dit opzicht geen