

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Tomáš Peš

Vývinová plasticita plazů
Developmental plasticity in reptiles

Typ závěrečné práce:

Bakalářská práce

Školitel: prof. Lukáš Kratochvíl, Ph.D.

Praha, 2020

Poděkování:

Chtěl bych poděkovat svému školiteli prof. Lukáši Kratochvílovi, Ph.D. za jeho trpělivost, kterou se mnou měl, jeho ochotu a cenné rady po celou dobu psaní této práce. Dále bych chtěl poděkovat své rodině za neustálou podporu při studiu.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 3. 6. 2020

Tomáš Peš

Abstrakt:

Prostředí, ve kterém se vyvíjejí plazi vejce, může mít výrazný vliv na fenotyp budoucích mláďat. Jedním z hlavních faktorů prostředí, který působí na vyvíjející se zárodky, je teplota. Odpověď fenotypu jedince na vliv prostředí může být rozmanitá. Může být krátkodobá, také ale může přetrvat do dospělosti, významné mohou být i pohlavně specifické reakce. Velké množství studií se zaměřilo na fenotypové změny indukované prostředím během rané ontogeneze, ale jen malá část si všímala délky trvání tohoto vlivu. V této práci jsou shrnuty studie zabývající se vlivem inkubačního prostředí na fenotyp mláďat u druhů plazů s teplotně i genotypově určeným pohlavím. Z těchto studií jsem se snažil posoudit, zda jsou tyto vlivy dlouhotrvající, zda jsou pohlavně specifické a nakolik empirické výsledky podporují Charnov & Bullovu hypotézu. Tato adaptivní hypotéza se snaží vysvětlit vznik a udržitelnost teplotně určeného pohlaví.

Klíčová slova:

fenotypová plasticita, prostředí, vývin, chování, morfologie, určení pohlaví, fenotyp

Abstract:

The environment during incubation can have significant influence upon phenotype of reptile hatchlings. Temperature is one of the main environmental factors affecting developing embryos. The response to variability in the environment can be diverse: short, long-lasting and potentially also sex-specific. A large number of studies focused on this phenomenon but only a small portion of them studied the persistence of the phenotypic effects. I summarized studies on the influence of environmental factors on the phenotype of reptiles in species with both temperature or genotypic sex determination. These studies were evaluated in terms of duration of these effects and if these are sex specific. I also assessed how much they correspond with the predictions of the adaptive model suggested by Charnov & Bull which explains the origin and maintenance of temperature sex determination.

Key words:

phenotypic plasticity, environment, development, behaviour, morphology, sex determination, phenotype

Obsah

1. ÚVOD	1
2. TEPLOTA JAKO KLÍČOVÝ FAKTOR V ŽIVOTĚ PLAZŮ	2
3. CHARNOV & BULLOVA HYPOTÉZA.....	4
3.1 Testování podpory Charnov & Bullova modelu u druhů s teplotně určeným pohlavím.....	6
3.2 Testování podpory Charnov & Bullova modelu u druhů s genotypově určeným pohlavím	14
4. ZÁVĚR.....	19
5. LITERÁRNÍ ZDROJE	22

1. Úvod

Vznik amniotického vejce se zdá být zásadní pro přesun obratlovců od akvatického způsobu života k plně terestrickému. K tomuto přelomu došlo u prvních blanatých (Amniota), ale první fosilní záznamy amniotického vejce jsou až z období, kdy již savci a plazi linie byly odděleny, tedy ze svrchního karbonu (Sues, 2019). Typickým způsobem rozmnožování u všech skupin dnešních plazů je snášení vajec a následná inkubace v podzemních hnízdech. Výjimku představují pouze šupinatí (Squamata), kteří zahrnují kromě ovipárně se rozmnožujících také živorodé druhy, což je jasně odvozená strategie (Blackburn, 2006). Jedinou skupinou šupinatých, kteří svá vejce někdy snášejí i do skulin či prasklin nad povrchem jsou gekoni (Gekkota). Vejce všech dnešních plazů mají velké množství žloutku a extraembryonální obaly, na povrchu s blanitou či vápenatou skořápkou, které do značné míry ochraňují vyvíjející se embryo před ztrátami vody, bakteriálními a houbovými infekcemi a bezobratlými predátory (Deeming & Unwin, 2004). Díky tomu se mohou plazi mláďata líhnout velmi dobře vyvinutá, často bez jakékoliv parentální péče o vejce (Sues, 2019).

Významným dílem se kromě genotypu a samičí investice podílejí na zdárném vývoji a výsledném fenotypu jedince vlivy prostředí. Účinky těchto vnějších faktorů mohou mít významný vliv na vlastnosti jedinců, které mohou výrazně přispět k jejich zdatnosti v průběhu celého života (Steele & Warner, 2020). Vývinová plasticita je speciálním typem fenotypové plasticity, kdy změny fenotypu vyvolané environmentálními faktory v průběhu rané ontogeneze jsou ireverzibilní (Gilbert, 2017). Reakční normy, tj. funkce popisující závislost fenotypu organismu na environmentálním faktoru (Stearns, 1989), by měly odrážet minulé selekční tlaky. Inkubační prostředí může ovlivnit celou škálu vlastností od tvaru a velikosti mláďete po jeho pohlaví, výkonnost či následný růst (Singh et al., 2020). Ve své bakalářské práci bych rád shrnul poznatky studií, zabývajících se vlivem inkubační teploty na fenotyp plazích mláďat, délce trvání těchto vlivů, či zda jsou tyto vlivy pohlavně specifické. Rád bych také posoudil, do jaké míry pohlavně odlišná odpověď fenotypu odpovídá predikcím hypotézy vysvětlující vznik a přetrvávání teplotně určeného pohlaví.

2. Teplota jako klíčový faktor v životě plazů

Teplota má dalekosáhlé dopady na biologické systémy od molekul po ekosystémy, a proto je počítána mezi nejdůležitější abiotické faktory ovlivňující organizmy na Zemi (Schulte et al., 2011). V životě plazů má velmi důležitou roli. Jelikož jsou plazi ektotermní, je jejich metabolismus závislý na okolní teplotě prostředí (Pough, 1980). Změny v tělesné teplotě plazů taktéž významně ovlivňují jejich lokomoční výkon, růst a rozmnožování, mnoho z faktorů ovlivňujících zdatnost jedinců je tedy závislých na teplotě (Birchard, 2004). Teplota má v průběhu vývoje plaziho zárodku zásadní vliv na délku inkubace, úspěšnost vylíhnutí a v neposlední řadě na fenotyp budoucích mláďat. U mnoha druhů plazů ovlivňuje pohlaví, velikost, tvar, chování a lokomoční výkonnost (Booth, 2006). Tyto vlivy teploty se ale nevyskytují u všech plazů ve stejné formě, často jsou shodné jen pro skupinu taxonů či dokonce specifické jen pro jediný druh (Valenzuela & Lance, 2004). Při konstantní teplotě inkubace se doba vývoje embrya ve vejci zkracuje s rostoucí teplotou až po prahovou hodnotu. Na pozadí tohoto děje je jednoduché vysvětlení. Metabolické děje včetně těch, které probíhají v zárodečném vývoji, se urychlují s rostoucí teplotou. Při nízkých teplotách se snižuje rychlost fyziologických procesů ve vejci, a tudíž se zpomaluje vývoj embrya (Shine & Harlow, 1996). Například u hada štíhlovky americké (*Coluber constrictor*) snížení konstantní teploty o šest stupňů při inkubaci odloží vylíhnutí mláďat až o 24 dní, než když jsou vejce inkubována při 28 °C. Při této teplotě činí interval od snesení vajec do vylíhnutí 39–40 dní (Burger, 1990). Při nízkých teplotách se prodlužuje doba, při které na snůšku působí jak biotické (např. mikrobiální kontaminace), tak i abiotické vlivy jako např. měnící se vlhkost, která taktéž může vést k úmrtí zárodku během vývoje ve vejci. Naopak vliv teploty blíží se horní či dolní hranici pro vývoj embryí určitého druhu je často spojen se vznikem morfologických abnormalit a také snížené lokomoční výkonnosti či životaschopnosti (Brana & Ji, 2000; Burger et al., 1987).

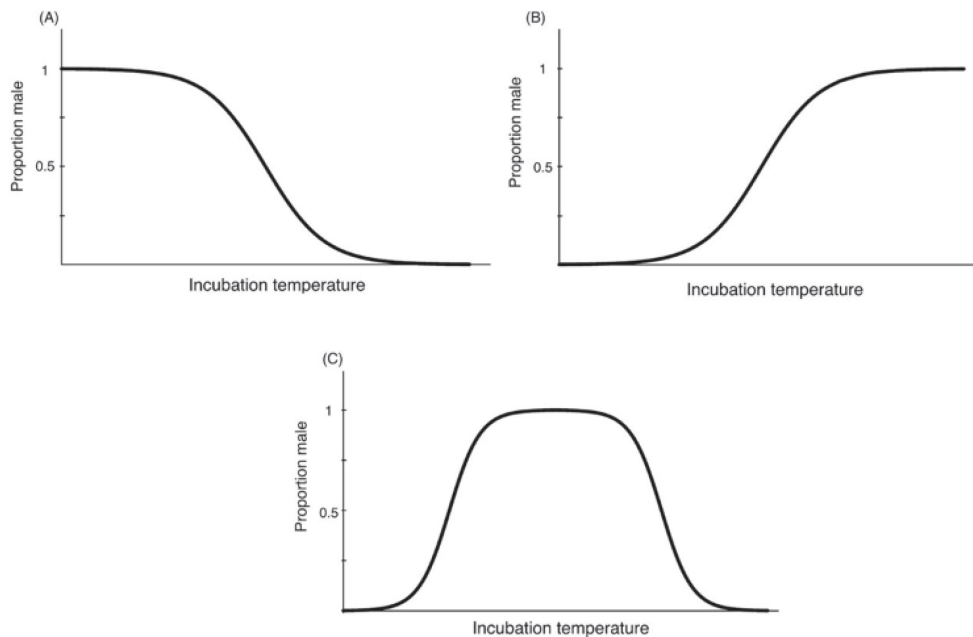
Existuje několik způsobů určení pohlaví, které produkují samčí a samičí jedince v populaci. Často je pohlaví určeno při spojení pohlavních buněk pohlavně-specifickým genotypem, tj. hlavně kombinací pohlavních chromosomů, ale existují i organizmy, kde je pohlaví jedince určeno až po oplození v průběhu vývoje embrya na základě vnějších faktorů. Tyto taxony disponují environmentálním určením pohlaví (dále jen ESD) (Charnov & Bull, 1977). ESD se vyskytuje u některých bezobratlých (Cook, 2002) a minoritně u obratlovců – u plazů (Janzen & Paukstis, 1991) a ryb (Godwin et al., 2003).

Faktory uplatňující se při určení pohlaví u bezobratlých mohou být rozmanité např. teplota, fotoperioda, u parazitů denzita jedinců stejného druhu v hostiteli, vlhkost, UV záření, pH a další. U obratlovců je dominantním faktorem určujícím pohlaví teplota (Korpelainen, 1990).

Jedním z nejpozoruhodnějších vlivů inkubační teploty je její vliv na gonadální pohlaví embryí. U plazů se teplotně určené pohlaví (dále jen TSD) vyskytuje u několika skupin, konkrétně u krokodýlů, hatérie, většiny želv a některých šupinatých plazů (Martínez-Juárez & Moreno-Mendoza, 2019). Na rozdíl od genotypově určeného pohlaví, kdy je pohlaví určeno pohlavními chromozomy nesoucími pohlaví determinující geny, je pohlaví u TSD určeno až po oplození teplotou prostředí zhruba ve druhé třetině embryogeneze. Výsledný poměr pohlaví vylíhlých mláďat při tomto způsobu určení pohlaví bývá často nevyrovnaný (Valenzuela et al., 2003).

U plazů existuje několik typů TSD (obr. 1). Tyto typy jsou definovány podle průběhu reakční normy pro určení pohlaví (Pezaro et al., 2017). Při TSD typu II (samice-samec-samice) se samice líhnou z nízkých a vysokých inkubačních teplot a samci ze středních teplot. TSD typu Ia (samec-samice) se vyznačuje produkcí samců z nízkých inkubačních teplot a samic z vysokých teplot, zatímco opačně je tomu u TSD typu Ib (samice-samec) (Valenzuela, 2004).

TSD u plazů přetrvávalo po miliony let, ale stále není známo, zda je to pro ně původní či odvozený způsob určení pohlaví (Pokorná & Kratochvíl, 2014). Existuje mnoho hypotéz zabývajících se evolucí TSD, z nichž nejpopulárnější je Charnov & Bullova hypotéza.

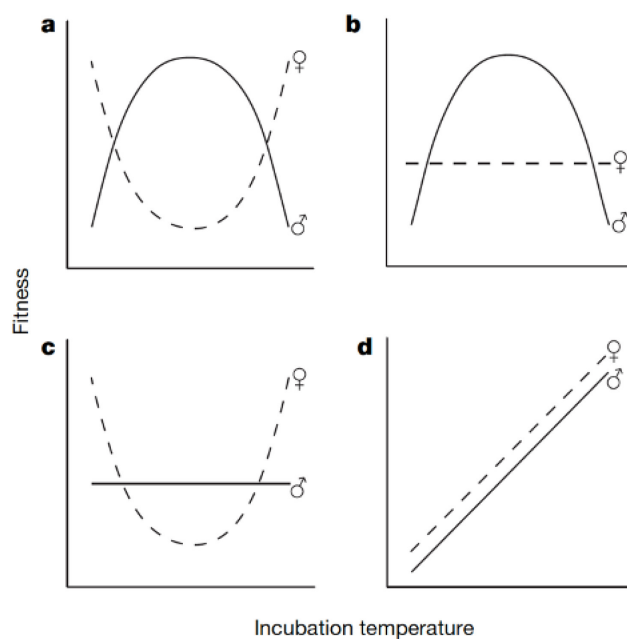


Obr. 1: Schematické zobrazení tří základních typů TSD vyskytujících se u plazů. Převzato z Pezaro et al. (2017).

- a) TSD typu Ia (samci se vyvíjejí při nízkých inkubačních teplotách a samice při vysokých teplotách).
- b) TSD typu Ib (samice se vyvíjejí při nízkých inkubačních teplotách a samci při vysokých teplotách).
- c) TSD typu II (samice se vyvíjejí při nízkých i vysokých inkubačních teplotách a samci při středních teplotách).

3. Charnov & Bullova hypotéza

Charnov & Bullova hypotéza je model určující podmínky, za kterých je upřednostněno ESD nad genotypově určeným pohlavím (GSD). Podle této hypotézy by selekce měla zvýhodnit ESD v proměnlivém prostředí, které má výrazný vliv na celoživotní zdatnost potomka. Navíc je nutné, aby některé části spektra prostředí byly výhodnější pro samice a jiné naopak pro samce (obr. 2). Rodič ani potomek nemohou určit, do které části prostředí potomek vstoupí (prostředí inkubace neumí předpovídat). Selekcce pak zvýhodní možnost měnit pohlaví během vývinu a přepnout se na pohlaví, které má za daných podmínek vyšší zdatnost (Charnov & Bull, 1977).



Obr. 2: Grafy závislosti zdatnosti (fitness) jednotlivých pohlaví na inkubační teplotě jako příklad teoretické předpovědi Charnov & Bullova modelu. Převzato z Warner & Shine (2008).

- Zdatnost samic je největší v krajních teplotách a zdatnost samců ve středních teplotách.
- Zdatnost samic není ovlivněna inkubační teplotou, ale zdatnost samců je nejvyšší, pokud pocházejí ze středních teplot.
- Zdatnost samců není ovlivněna inkubační teplotou, ale zdatnost samic je nejvyšší, pokud pocházejí z krajních teplot.
- Zdatnost samců i samic je ovlivněna inkubační teplotou, ale stejným způsobem. V případech a–c by selekce upřednostňovala vznik TSD typu II (v nízkých a vysokých teplotách by byl indukován vývin samic a ve středních teplotách vývin samců), v případě d by selekce neupřednostnila určení pohlaví na základě TSD.

3.1 Testování podpory Charnov & Bullova modelu u druhů s teplotně určeným pohlavím

Charnov & Bullova hypotéza predikuje, že TSD bude u plazů za určitých podmínek adaptivní. Některé části prostředí by měly být výhodnější pro jedno pohlaví a jiné části pro to druhé. Jednotlivá stanoviště se liší abiotickými i biotickými faktory. Plazí zárodky by tedy měly odlišně reagovat na environmentální vlivy (např. teplota při inkubaci, vlhkost). Vývoj onoho pohlaví by měl převládat v té nejvýhodnější části např. teplotního spektra, která umožní jedinci získat optimální pohlavně-specifické fenotypové vlastnosti (morfologické, behaviorální, lokomoční), díky kterým bude schopen získat co možná nejvyšší celoživotní zdatnost (Charnov & Bull, 1977).

V následujících kapitolách se budu zabývat jednotlivými případovými studiemi, které se týkají inkubace plazích vajec a vlivu vnějších faktorů při inkubaci na fenotyp mláďat. Mým hlavním zájmem budou studie, které si všímají přetrvávání vlivu na fenotypové vlastnosti do dospělosti jedince a zda jsou tyto vlivy pohlavně specifické. U všech studií se pokusím posoudit, nakolik odpovídají predikcím Charnov & Bullovy hypotézy.

Vliv teploty během raného vývoje byl demonstrován na morfologii, agresivní i reprodukční chování a endokrinní fyziologické změny přetrvávající do dospělosti u gekončíka nočního (*Eublepharis macularius*). Jde o ještěra s TSD typu II (samice-samec-samice), kdy se z krajních teplot líhnou převážně samice a ze středních hlavně samci (Viets et al., 1993). Gutzke & Crews (1988) popsali, že samice gekončíka vylíhnuté z nízkých teplot vykazovaly standardní samičí reprodukční chování při namlouvání samcem (byly receptivní), zatímco samice vylíhnuté ze samčích teplot vykazovaly vůči samci netypické chování, jako by samy byly samci. Projevovaly se u nich prvky namlouvacího chování samců, ale nikdy nevíbrovaly ocasem, jako je tomu u typických projevů samců. Toto chování se nezměnilo ani po dvou letech. Zároveň byli jedinci obou pohlaví ze střední inkubační teploty větší než ti původem z nízkých a vysokých teplot (Tousignant & Crews, 1995). U samic inkubovaných při středních teplotách bylo agresivní chování vůči samci nejvýraznější a zároveň byly tyto samice nejméně atraktivní pro samce (Flores et al., 1994). Tomu odpovídaly i koncentrace pohlavních hormonů u jedinců z jednotlivých inkubačních teplot. Samice inkubované při středních teplotách

vykazovaly vysoké hladiny androgenů a nízkou hladinu estrogenu, obráceně tomu bylo u samic inkubovaných při nízkých teplotách. Zvýšené množství estradiolu bylo pozorováno u samců z nízkých teplot, ale koncentrace androgenů se nelišily mezi samci napříč teplotami (Tousignant & Crews, 1995). Podle Rhena & Crewse (1999) je vliv inkubační teploty patrný u některých pohlavních projevů samců. Samci ze samčích teplot například daleko více značkovali podklad než samci inkubovaní při samičích teplotách. Naopak teplota inkubace podle nich nemá vliv na dvoření se samici a agresivní chování.

Exogenní estradiol vpravený do vejce na začátku vývoje překoná vliv teploty na pohlaví. Toho využili Flores et al. (1994): aplikací estradiolu si připravili samice inkubované za samčí inkubační teploty a otestovali jejich chování. Tyto samice byly v dospělosti více agresivní než nemanipulované samice ze samičích inkubačních teplot, nicméně byly pro samce stejně atraktivní jako samice vylíhnuté z nízkých teplot. Samice přirozeně (tj. neindukované aplikací hormonu) vylíhnuté ze samčích teplot však byly pro samce výrazně neatraktivní.

Po vyoperování pohlavních orgánů v dospělosti a následné aplikaci steroidních hormonů byl u gekončků patrný organizační, ale i aktivační vliv pohlavních hormonů na vývin pohlavně-specifického chování jedince. U sterilizovaných samic se po aplikaci androgenů neprojevovalo některé typické chování samců, tedy značkování podkladu a vibrování ocasem, které bylo výrazně aktivováno u kastrovaných samců (Rhen & Crews, 1999). Rhen a Crews tedy tvrdí, že toto chování muselo být mezi samci a samicemi jinak organizováno v raném vývinu. S těmito výsledky však nesouhlasí Schořálková et al. (2017). Tito autoři prokázali, že se toto typické samčí chování projevilo u obou pohlaví (u samců kastrovaných v prepubertálním věku i neoperovaných samic), ale že k jeho vyvolání je nutná dlouhodobější aplikace testosteronu. Podle nich Rhen a Crews (1999) došli k závěru, že toto samčí chování u samic nelze vyvolat, prostě jen proto, že nečekali dost dlouho na projevení vlivu hormonů. I vyhasínání chování je velmi pomalé, přetrvávalo u samic až 29 týdnů po ukončení aplikace androgenů.

V práci Rhena a Crewse (1999) se i aktivování agresivního chování androgeny u kastrovaných gekončků lišilo mezi pohlavími. Dihydrotestosteron aktivoval agresivní chování jen u samců, zatímco testosteron aktivoval toto chování u obou pohlaví. Patrný byl vliv gonadálního pohlaví na submisivní chování. Samice přechaly po napadení konspecifickým jedincem velmi zřídka bez ohledu na hormonální ošetření, naopak samci přechali po aplikaci cholesterolu častěji než po aplikaci androgenů. Toto zjištění naznačuje, že nejen teplota, ale i hormony produkované gonádami mají u tohoto druhu

vliv na chování a je tedy nutné pečlivě zvážit, co je vliv teploty a co vliv pohlaví (Rhen & Crews, 1999, 2000). Rozdílné chování jedinců vylíhnutých při odlišných inkubačních teplotách může být vysvětleno odlišnou citlivostí vůči těmto hormonům a množstvím receptorů pro tyto hormony v mozku (Flores & Crews, 1995). Problém s načasováním testování odhalený Schořálkovou et al. (2017) ale poněkud znejišťuje výsledky těchto studií.

Toho, že výsledky u gekončíka nočního odpovídají Charnov & Bullova modelu si všimli již Gutzke a Crews (1988), přestože předpokládali, že TSD u tohoto druhu by mělo být typu Ib, tedy že z nízkých inkubačních teplot se líhnou samice a z vysokých samci (Gutzke & Crews, 1988). Opomenuli ale inkubovat vejce v celém spektru teplot, tedy i nad 32 °C. V jejich pokusu se samice ze samčích teplot nerozmnožily, přičemž tento výsledek byl přisuzován sterilitě samic z této inkubační teploty. Předpokládaný typ určení pohlaví (TSD Ib) byl později vyvrácen tím, že byly vylíhnuty samice z ještě vyšších teplot, než jsou ty produkující přirozeně samce (Viets et al., 1993). Nicméně embrya inkubovaná při vysokých konstantních teplotách musela být těsně před líhnutím přemístěna do nižší teploty, aby došlo k vylíhnutí, jelikož konstantní teplota nad 35 °C během celé doby inkubace je letální a teploty blízké se této hranici mají taktéž vysokou úmrtnost zárodků. Oproti původním výsledkům a předpokladům (Gutzke & Crews, 1988) se také ukázalo, že samice z vysokých teplot jsou schopné úspěšné reprodukce a samice ze samčích inkubačních teplot taktéž. Není ale jisté zda byly tyto samice receptivní vůči samci, či byly ke kopulaci donuceny samcem (Viets et al., 1993). S tímto výsledkem korelují i zjištění Tousignant & Crewse (1995), kteří taktéž došli ke stejnému závěru: počet vajec i vylíhnutých mláďat se dle jejich pozorování nelišil u samic, které byly inkubovány při nízkých a středních teplotách.

Z výsledků uvedených studií nelze stoprocentně říci, zda studie u gekončíka nočního plně podporují predikci Charnov & Bullova modelu. Je zde totiž několik překážek, které vznikly při testování mimo přirozené prostředí druhu. Například je nepravděpodobný vývoj samic z vysokých teplot (nad 35 °C) v přírodě vzhledem k nočním poklesům teplot, ale i denním fluktuacím v teplotě. Dále skutečnost že se samice ze středních (přirozeně samčích) teplot úspěšně rozmnožily v laboratoři, kde žily společně se samcem, nemusí znamenat, že stejný výsledek by nastal i v přírodě, kde by agresivita těchto samic mohla být důvodem k výrazné neatraktivnosti. Větší velikost těla u samců ze středních inkubačních teplot a častější značkování podkladu je výhodou u tohoto teritoriálního druhu, u kterého je známo, že spolu samci soupeří (Kratochvíl &

Frynta, 2002). Je pro ně tedy výhodnější být v soubojích větší než jedinci z krajních (přirozeně samičích) teplot, kteří dorůstají menších rozměrů.

Agama (*Amphibolurus muricatus*) je druhem taktéž vykazující TSD typu II (samice-samec-samice). Jde o krátkověký druh dožívající se v přírodě 3–4 let (Harlow & Taylor, 2000). Teplota u tohoto druhu ovlivňuje úspěšnost rozmnožení odlišně u samců a samic. Warner & Shine (2008) inkubací vajec této agamy ve všech třech inkubačních režimech a umělou aplikací inhibitoru aromatázy u poloviny vajec v každé inkubační teplotě rozpojili vliv pohlaví od vlivu teploty. Inhibitorem ošetřená embrya nejsou schopna přetvářet testosteron na estradiol, což umožní vznik samců v samičích inkubačních teplotách. Následně byla mláďata vypuštěna do přírodních výběhů a zkoumána po dobu 3,5 let. Inkubační teplota u tohoto druhu má zanedbatelný přímý vliv na fenotyp mláďat, ale její efekt na sezónní načasování vylíhnutí je velmi významný (Warner & Shine, 2005, 2007). Pouze samice vylíhnuté z vysoké inkubační teploty jsou schopné se rozmnožit už v prvním roce života, jelikož dokáží více vyrůst než mláďata z nižších inkubačních teplot. Samci se naopak nerozmnožují v prvním roce, přestože jsou pohlavně zralí, protože neuspějí v soubojích s většími, staršími samci (Warner & Shine, 2005). Samci ze středních inkubačních teplot byli větší a měli více potomků než samci z krajních inkubačních režimů (Warner & Shine, 2008). Větší velikost je u tohoto druhu spojená se schopností obhájit teritorium (Harlow & Taylor, 2000). Opačně tomu bylo u samic, které měly nejvíce mláďat, když pocházely z krajních teplot, protože jejich reprodukční úspěch nesouvisí s velikostí těla a není pro ně tedy důležité, zda jsou velké či naopak malé. Zdatnost obou pohlaví byla tedy maximalizována při inkubační teplotě, která přirozeně determinuje vznik onoho pohlaví. Odlišný vliv teploty na reprodukci u samců a samic u tohoto druhu přesně odpovídá predikci Charnov & Bullova modelu.

Pohlavně specifický vliv inkubační teploty byl zjištěn také u agamy (*Agama picticauda*, dříve *A. agama*). Agama osadní (*Agama agama*) byla vůbec prvním druhem, u kterého Charnier (1966) přišla na existenci TSD a určila jej na základě dvou inkubačních teplot jako TSD typu Ib (samice-samec) (Charnier, 1966 ex. Steele et al., 2018). Po více jak 50 letech bylo TSD u druhu (*Agama picticauda*), který vznikl rozdělením druhu (*Agama agama*) na tento a dalších 6 druhů, znovu prozkoumáno inkubací při větším spektru inkubačních teplot. Výsledkem je TSD typu II (samice-samec-samice) (Steele et al., 2018).

Vliv teploty při inkubaci byl testován za série konstantních i fluktuujících teplot, přičemž výsledek obou přístupů byl podobný. Jedinci ze středních teplot byli větší v délce těla i ocasu než z nízkých a vysokých inkubačních teplot. Lokomoční výkonnost nebyla ovlivněna inkubační teplotou. Fenotyp samců a samic byl ovlivněn stejným způsobem. Z výsledků ale vyplývá, že samice přežívaly déle, když pocházely z krajních (přirozeně samičích) teplot. Oproti tomu samci měli maximalizované přežití, když se vylíhli ze středních teplot (Steele & Warner, 2020). Vliv inkubační teploty na přežití jedinců tohoto druhu byl pohlavně specifický, a to odpovídá predikcím Charnov & Bullova modelu.

Vliv teploty na vlastnost, která má vliv na zdatnost, byl zjištěn u kajmanky dravé (*Chelydra serpentina*). U této želvy je také pohlaví určeno TSD typu II (samice-samec-samice) (Yntema, 1976). Teplota při inkubaci má silný vliv na růst u mladých želv. Pomocí hormonální manipulace byl oddělen vliv pohlaví od vlivu inkubační teploty. Aplikováním 17 β -estradiolu do embryí inkubovaných při samčí teplotě během termosenzitivní periody byl stimulován vývoj vaječníků a pomocí inhibitoru aromatázy (fadrozol) do embryí inkubovaných při samičí inkubační teplotě vývoj varlat (Rhen & Lang, 1994). Tito uměle vytvoření jedinci měli funkční gonády, které produkovaly normální hladiny steroidních hormonů odpovídající jednotlivým pohlavím (Rhen et al., 1996). Z výsledku bylo zřejmé, že nejrychleji rostou jedinci ze střední, tedy přirozeně samčí inkubační teploty a byl vyloučen vliv gonadálního pohlaví na tuto vlastnost. Zároveň byl vyloučen vliv teploty přes působení steroidních hormonů.

Kajmanka dravá představuje druh s výrazným pohlavním dimorfismem ve velikosti a věku, kdy dosáhnou samci a samice pohlavní dospělosti. Samci dospívají v nižším věku, přesto jsou při dosažení dospělosti větší než samice. Výsledky těchto studií naznačují, že tento pohlavní dimorfismus je alespoň částečně vysvětlitelný přizpůsobením pohlaví inkubačním podmínkám (Rhen & Lang, 1995). Nejrychlejší růst samců ze střední teploty vede k větší velikosti při dosažení pohlavní velikosti. Jelikož samci kajmanek obhajují svá teritoria, větší velikost dává vlastníkovu teritoria výhodu v soubojích s menšími samci (Keevil et al., 2017). Tato skutečnost nasvědčuje, že by mohl rychlejší růst u samců ze středních teplot maximalizovat jejich zdatnost, což by odpovídalo predikci Charnov & Bullova modelu. Bohužel ale neexistuje studie, která by zhodnotila celoživotní zdatnost těchto želv vzhledem k jejich dlouhému životu.

V rozporu s těmito studiemi je výsledek Steyermarka a Spotily (2001), kteří na rozdíl od předchozích studií drželi mláďata kajmanek vylíhnutých ze tří konstantních

teplot jednotlivě a vyloučili tak možnou konkurenci mezi konspecifickými jedinci. Taktéž byla mláďatům odepřena možnost opustit vodu a neměla možnost se vyhřát pod zdrojem tepla. Růst těchto jedinců po dobu 6 měsíců nebyl výrazně ovlivněn inkubační teplotou. Naopak se výrazně lišil růst mláďat z jednotlivých snůšek, což ukazuje na to, že rodinná příslušnost a možná genotyp mají výrazný vliv na růst. Maternální investice do snůšky měla taktéž výrazný vliv na velikost. Obecně se z větších vajec líhla větší mláďata, která byla po celou dobu větší než ostatní mláďata (Steyermark & Spotila, 2001). Odlišný výsledek předchozích studií může být přisuzován různé individuální termoregulaci u mladých želv, a tedy odlišnému růstu či vzájemné kompetici mezi želvami. Je možné, že inkubační teplota nemá přímý vliv na růst u kajmanky dravé, ale může ovlivnit teplotní preference u mladých želv, a to může vést k odlišnému růstu želv z různých inkubačních teplot.

Možný vliv teploty na fenotyp byl zřejmý i u čeledi emydovitých (Emydidae), bohužel zde nebyl oddělen možný vliv teploty od vlivu gonadálního pohlaví. Vliv na rychlost růstu byl patrný u želvy diamantové (*Malaclemys terrapin*), která vykazuje TSD typu Ia (samec-samice). U tohoto druhu jsou na rozdíl od kajmanky dravé samice větším z pohlaví při dosažení pohlavní dospělosti. Jedinci z vyšší teploty rostli rychleji po dobu tří let. Bohužel v tomto případě nebyly provedeny hormonální manipulace, a tak se z nižší teploty vylíhli pouze samci a z vysoké teploty pouze samice (Roosenburg & Kelley, 1996).

Výkonnost je další z vlastností, která může ovlivňovat výslednou zdatnost jedince. U vodních želv bylo vybráno jako vhodné měřítko výkonnosti měření času, za který se želva otočí ze zad zpět na nohy. V přírodě jsou želvy ležící na zádech výrazně zranitelné a jsou tedy velmi motivovány dostat se do správné polohy (Delmas et al., 2007). Druhem takto testovaným byla želva ouachitská (*Graptemys ouachitensis*). Tato želva disponuje TSD typu Ia (samec-samice) (Bull & Vogt, 1979). Mláďata, která se vylíhla z vajec inkubovaných při nízkých teplotách byla pomalejší při obracení se a pomaleji rostla na rozdíl od mláďat z vysokých inkubačních teplot (Freedberg et al., 2001). Přetrvávající efekt teploty na fenotyp byl prokázán při testování těchto želv i v jednom roce života. Želvy původem z vysoké inkubační teploty (30 °C) byly stále rychlejší při obracení se než jedinci z nízké inkubační teploty (25 °C). Tento výsledek se nezměnil ani při různých teplotách při testování či bez ohledu na to zda byly želvy původem z různých inkubačních režimů chovány společně či odděleně (Freedberg et al., 2004).

Ve stejné studii se věnovali i testování výkonnosti u želvy nádherné (*Trachemys scripta elegans*). U tohoto druhu byl zjištěn stejný vliv teploty na výkon jako u předchozího druhu u mláďat i u ročních želv, ale pouze když byla okolní teplota při testování shodná s teplotou inkubace (30 °C). Toto zjištění naznačuje, že vliv teploty na lokomoci může být rozšířený napříč vodními želvami, které disponují TSD (Freedberg et al., 2004).

U mnoha druhů vodních želv včetně rodu *Graptemys* může být silná selekce pro větší výkon u samic než u samců. Dospělí samci u těchto želv váží v dospělosti méně než polovinu hmotnosti samic. Samci těchto taxonů také zřejmě neobhajují teritoria a nebojují o samice. Naopak samice musí každý rok opustit vodu a vydat se na souš snést vejce. Méně výrazný vliv na lokomoční výkonnost u želvy nádherné (*Trachemys scripta elegans*) může být přisuzován větší velikosti samců v dospělosti a také častějšímu pobytu na souši u tohoto druhu než u rodu *Graptemys* (Freedberg et al., 2004).

U želvy ozdobné (*Chrysemys picta*), která disponuje TSD typu Ia (samec-samice) (Ewert et al., 1994) byl zkoumán vliv inkubační teploty na fenotypové vlastnosti. Vejce tohoto druhu byla uměle inkubována ve třech inkubačních režimech (Warner et al., 2020). Studeném, při kterém se přirozeně líhnou samci, středním, který produkuje přirozeně vyrovnaný poměr pohlaví a teplém režimu, který produkuje samičí jedince. Pomocí hormonální manipulace byl odstraněn vliv inkubační teploty na gonadální pohlaví. Na část vajec byl před termosenzitivní periodou aplikován 17 β -estradiol za účelem umělého vytvoření samic a na část vajec byl aplikován při stejném období fadrazol (inhibitor aromatázy) za účelem tvorby samců ve všech inkubačních režimech.

Překvapivým výsledkem bylo, že vejce ošetřená estradiolem produkovala samce. To bylo pozorováno i v předchozí studii (Warner et al., 2014). Tento jev může být přisuzován nepřirozeně vysokým dávkám estradiolu působících na embryo, které mohly způsobit zvýšení koncentrace testosteronu při termosenzitivní periodě. Po vylíhnutí byly samice zanedbatelně, ale statisticky významně větší než samci. Nicméně samci z přirozeně samčí teploty (26 °C) byli relativně delší, ale ne těžší než samci z ostatních teplot. Samice byly stejně velké bez ohledu na inkubační teplotu. Celková variabilita ve velikosti obou pohlaví napříč inkubačními režimy byla velmi malá (Warner et al., 2020).

Následky této malé variability na zdatnost není možné posoudit bez dlouhodobější studie, která nebyla autory kvůli logistickým problémům provedena. Vzhledem k výsledkům, které ukazují, že samci z přirozeně samčích teplot jsou větší po vylíhnutí

než samci z ostatních teplot a samice nejsou ovlivněny inkubační teplotou v tomto ohledu, by měly tyto výsledky odpovídat predikcím Charnov & Bull modelu. Nicméně není možné posoudit, jak by tyto malé rozdíly ve velikosti mezi samci mohly mít zásadní vliv na zdatnost bez dlouhodobé studie.

Naopak u želvy ostruhaté (*Geochelone sulcata*) inkubační teplota determinuje gonadální pohlaví (TSD typu Ia) a určuje délku inkubace, ale nemá vliv na životaschopnost mláďat ani na jejich hmotnost po vylíhnutí. Následný růst a teplotní preference želv taktéž nebyly ovlivněny teplotou při inkubaci po dobu 330 dní od vylíhnutí do konce studie (Ligon et al., 2009). Výsledky této studie neodpovídají predikcím Charnov & Bullova modelu. Želvy obou pohlaví nebyly ovlivněny inkubačním režimem. Velikost jedinců a jejich teplotní preference byly ovlivněny pouze identitou matky.

U haterie novozélandské (*Sphenodon punctatus*) byl zjištěn vliv inkubační teploty na růst po vylíhnutí. Haterie představuje druh s TSD typu Ib (samice-samec) (Nelson et al., 2004). Inkubační teplota při umělé inkubaci při konstantních teplotách (18, 21, 22 °C) neovlivnila zásadním způsobem velikost mláďat po vylíhnutí. Ovlivnila ale následný růst. Velikost mláďat po 10 měsících od vylíhnutí se lišila mezi teplotními režimy, přičemž všechna měla stejné životní podmínky. Jedinci z nejnižší inkubační teploty byli nejmenší oproti jedincům z vyšších teplot. Tento rozdíl může být přisuzován suboptimální teplotě pro vývoj, i vzhledem ke zvýšené mortalitě embryí z této teploty. Zajímavé je, že tito jedinci byli stále větší než mláďata, která byla inkubována v přirozených hnízdech. Jedinci vylíhnutí v přírodě byli menší i po 10 měsících. Haterie, které se vylíhly v přírodě a byly tedy nejmenší ze studovaných zvířat, byly rychlejší než uměle inkubovaná mláďata (Nelson et al., 2006). Vliv pohlaví nebyl oddělen od vlivu inkubační teploty (Thompson et al., 2004). U této studie nelze určit, zda odpovídá předpovědi Charnov & Bullova modelu, jelikož vliv gonadálního pohlaví může být zaměněn s vlivem inkubační teploty. Navíc haterie je dlouhověký plaz dožívající se až 100 let (van Winkel et al., 2018), tudíž uvažovat jaký vliv může mít rozdíl ve velikosti v 10 měsících věku je nedostačující z pohledu na životní zdatnost těchto jedinců.

Aligátor americký (*Aligator mississippiensis*) disponuje TSD typu II (samice-samec-samice) (Lang & Andrews, 1994) a byl u něj zaznamenán vliv inkubační teploty

na fenotyp mláďat. Vejce tohoto druhu byly inkubovány za série konstantních teplot. Hmotnost mláďat po vylíhnutí nebyla ovlivněna inkubační teplotou, zatímco rozměry mláďat se lišily mezi inkubačními režimy. Největší byla mláďata z nejvyšší teploty (32 °C) a nejmenší naopak z nejnižší aplikované teploty (29 °C). Inkubační teplota také ovlivnila vstřebávání živin ze žloutkového váčku, respektive množství nespotřebovaného žloutku po vylíhnutí se lišilo mezi inkubačními režimy. Nicméně nebyl zde zřejmý trend a bylo usouzeno, že tento vliv na vstřebávání živin bude komplexnější. Pohlavně specifický vliv na fenotyp byl zhodnocen pouze u jedinců ze 32 °C, přičemž samice měly větší množství nespotřebovaného žloutkového váčku a samci naopak vážili více při porovnání „čisté“ váhy těla bez žloutkového váčku a měli širší hlavy (Allsteadt & Lang, 1995). Autoři tyto výsledky uvádějí jako podporu Charnov & Bullova modelu, tedy že větší váha a širší hlava samců z této teploty jsou pro ně výhodou oproti ostatním samcům. Nicméně vliv inkubační teploty zde nebyl oddělen od vlivu gonadálního pohlaví a zároveň není jisté, že se tyto velikostní rozdíly nevytratí později v průběhu jejich života. Není tedy možné říci, že jde o podporu Charnov & Bullova modelu.

3.2 Testování podpory Charnov & Bullova modelu u druhů s genotypově určeným pohlavím

Charnov & Bullova hypotéza se snaží vysvětlit ESD, můžeme z ní ale odvodit predikci i pro GSD druhy. Zde by podle této hypotézy mohlo mít prostředí vliv na fenotyp, ten by ale neměl být pohlavně specifický (Elphick & Shine, 1998).

Scink (*Bassiana duperreyi*) je druhem s GSD, u kterého byl zkoumán vliv teploty na fenotyp (Shine et al., 1997). Mláďata z různých teplotních režimů simulujících podmínky v reálných hnízdech se lišila v lokomoční výkonnosti po dobu šesti měsíců. Při inkubaci vajec při „studeném“ režimu se líhla menší mláďata, která byla také pomalejší než mláďata z vysokých teplot, a to bez ohledu na věk mláďat a teploty při testování. Rozdíly ve velikosti těla byly krátkodobé a po nějakém čase se vliv teploty na velikost vytratil, zatímco vliv teploty na lokomoční výkonnost přetrval po celou dobu studie (6 měsíců) (Elphick & Shine, 1998). Časnější vylíhnutí, větší velikost a lepší lokomoční výkonnost mohou pomoci mláďatům tohoto horského druhu přežít kritické období jejich

života. Bohužel není známo, zda mělo pohlaví vliv na fenotyp, nelze tedy říci, zda tato studie odpovídá predikci Charnov & Bullovy hypotézy.

Později bylo zjištěno, že na fenotyp mají vliv i výkyvy teplot bez ohledu na průměrnou teplotu v průběhu inkubace (Shine, 2004). Vejce byla inkubována v inkubačních režimech se stejnými celkovými průměrnými hodnotami průměrné teploty (18 °C) a denním rozsahem teplot (± 5 °C), ale lišících se v posloupnosti teplot. Část vajec byla inkubována při 18 ± 5 °C po celou dobu inkubace, další část byla inkubována při postupně stoupajících teplotách od 16 ± 5 °C do 20 ± 5 °C a zbytek byl inkubován naopak od teplých (20 ± 5 °C) do studených (16 ± 5 °C) teplot. Při inkubaci vajec v teplotních režimech se stejnou průměrnou teplotou inkubace, ale jinou fluktuací teplot je výrazně ovlivněna doba inkubace a také fenotyp mláďat. Mláďata inkubovaná při 18 ± 5 °C se vyvíjela v průměru o 7 dní déle než mláďata z výrazně fluktuujících režimů. Inkubace, kde průměrná teplota postupně klesala, produkovala mláďata s častým výskytem morfologických deformací, menší velikostí a zhoršenou lokomoční výkonností oproti mláďatům z postupně rostoucích teplot. Gonadální pohlaví mělo vliv na morfologii a lokomoční výkonnost mláďat, ale nezávisle na vlivu inkubační teploty. Samci měli kratší tělo, relativně delší ocas, byli těžší a běhali rychleji než samice. Bohužel není známo jak dlouho tento vliv teploty a pohlaví přetrvává (Shine, 2004). Jelikož bylo prokázáno, že vliv pohlaví na fenotyp nebyl spjat s vlivem inkubační teploty, tak tato studie podporuje predikci Charnov & Bullova modelu: tento scink je pohlavně dimorfní, ale obě pohlaví stejně reagují na vliv inkubační teploty.

Další z vlastností, která je ovlivněna inkubační teplotou, je schopnost se učit. Mláďata z vyšší inkubační teploty byla schopna se lépe naučit nalézt pozici úkrytu při simulovaném útoku než mláďata z nízké inkubační teploty ve věku 1–4 měsíců. Není tedy známo, zda je vliv teploty dlouhotrvající. Obě pohlaví reagovala na vliv inkubační teploty stejně (Amiel & Shine, 2012). Mláďata z vysoké inkubační teploty, která jsou schopná se lépe učit, jsou také větší a rychleji běhají. Tyto tři vlastnosti jsou tedy optimalizovány při stejné inkubační teplotě. Nicméně u jedinců ze stejné inkubační teploty nebyl stejný trend jako mezi dvěma inkubačními teplotami, tedy neplatilo, že větší jedinci byli rychlejší nebo chytřejší než menší jedinci (Amiel et al., 2014). Z výsledků těchto dvou pokusů vyplývá, že také podporují predikce Charnov & Bull modelu.

V další studii žádné z mláďat z nízké inkubační teploty nebylo schopno vyřešit motorický úkol (5x za sebou odstranit víčko z lahve dělicí jej od potravy pod ním) na rozdíl od poloviny úspěšných mláďat inkubovaných ve vysoké inkubační teplotě.

Mláďata z vysoké teploty, která zvládla tento úkol byla také schopna se rychle naučit rozlišovat barvy a spojit si určité barvy s odměnou ve formě potravy. Z těchto jedinců bylo více samic než samců schopno vyřešit motorický úkol, ale jelikož to byli pouze tři samci, není možné následně porovnávat odlišnosti mezi pohlavími ve schopnosti rozlišovat barvy (Clark et al., 2014). Tato studie odpovídá predikci Charnov & Bullova modelu, protože jedinci z vysoké teploty (samci i samice) byli schopni vyřešit motorický úkol, ale žádný samec ani samice z nízké inkubační teploty to nezvládl. Obě pohlaví jsou tedy v tomto ohledu ovlivněna inkubační teplotou stejným způsobem. Zajímavé také je, že u tohoto druhu s GSD má teplota inkubace vliv na poměr pohlaví. Nízké teploty produkují více než 70 % samců ve snůškách (Shine et al., 2002).

U jiného druhu scinka (*Oligosoma suteri*), který je jediným původním oviparním scinkem na Novém Zélandu, byl zjištěn vliv inkubační teploty na fenotyp (Hare et al., 2002). Inkubací vajec tohoto druhu při konstantních teplotách (18, 22, 26 °C) bylo zjištěno, že inkubace při nejnižší ze tří inkubačních teplot snižuje životaschopnost zárodků a zvyšuje pravděpodobnost výskytu tělesných abnormalit. Toto zjištění indikuje, že tato teplota je blízko spodní hranici pro vývoj embryí tohoto druhu. Taktéž se lišilo zbarvení mláďat z této inkubační teploty oproti ostatním mláďatům. Mláďata z 18 °C byla jednoduše tmavě hnědá oproti přirozenému šedohnědě tečkovanému zbarvení mláďat ze dvou zbylých teplot (Hare et al., 2002). Mláďata z těchto tří inkubačních teplot se nelišila ve velikosti po vylíhnutí, ale po 12 měsících byla mláďata z nízké teploty nejmenší, oproti jedincům z vyšších teplot ve všech měřených rozměrech. Pohlaví nemělo vliv na růst (Hare et al., 2004). Inkubační teplota také ovlivnila lokomoční výkonnost mláďat. Nejpomaleji běhali jedinci z nejnižší inkubační teploty bez ohledu na pohlaví a to i po 4 měsících (Hare et al., 2008). Z výsledků těchto tří studií je patrné, že jsou jedinci obou pohlaví ovlivněni inkubační teplotou stejným způsobem, což odpovídá predikcím Charnov & Bull modelu.

U ještěrky zední (*Podarcis muralis*) byl zjištěn vliv inkubační teploty na životaschopnost zárodků a fenotyp mláďat po vylíhnutí. Při inkubaci vajec za série konstantních teplot byla výrazně negativně ovlivněna životaschopnost zárodků při nejvyšších testovaných teplotách (32, 35 °C), zatímco při středních a nízkých teplotách byla úspěšnost vylíhnutí mnohem vyšší (van Damme et al., 1992).

Velikost ještěrek po vylíhnutí pozitivně korelovala s velikostí vejce a také byla ovlivněna inkubační teplotou. Mláďata inkubovaná při dvou nejvyšších teplotách byla v průměru menší než jedinci z nižších inkubačních teplot (24, 28 °C). Vliv nižších inkubačních teplot se projevil také na rychlejším růstu a zvýšené lokomoční výkonnosti mláďat z těchto teplot oproti ostatním mláďatům. Větší velikost po vylíhnutí a rychlý růst mláďat z 28 °C měl za následek největší velikost těchto mláďat po 2 měsících (van Damme et al., 1992).

Výsledky se shodují se studií Brana & Ji (2000), kdy byla stejná populace tohoto druhu testována také za série částečně odlišných konstantních teplot než v předchozí studii. Jedinci obou pohlaví z nejvyšší inkubační teploty byli nejmenší po vylíhnutí, měli nejhorší lokomoční výsledky a nejpomaleji rostli.

Výsledky těchto dvou studií ukazují na vliv teploty blížící se horní hranici pro vývoj u ještěrky zední. Odpověď jedinců obou pohlaví na vliv inkubační teploty se nelišil, tudíž výsledky těchto studií odpovídají predikcím Charnov & Bullovy hypotézy.

Vliv teploty na personalitu je patrný také u druhů s GSD. Chování jedince je formováno dědičně, tak i pomocí externích faktorů během ontogeneze. Takový vliv byl zjištěn u agamy vousaté (*Pogona vitticeps*) (Siviter et al., 2016). Teplota během inkubace měla vliv na odvážnost mláďat (měřena doba strávená v blízkosti neznámého objektu). Jedinci inkubovaní při vysoké teplotě jsou odvážnější než jedinci z nízké teploty, ale pouze po krátkou dobu (5 dní). Po třech měsících nebyl tento vliv patrný (Siviter et al., 2016). Vzhledem k tomu, že vliv inkubační teploty na odvážnost agam nebyl dlouhotrvající, nelze uvažovat o tom, že by mohl mít vliv na zdatnost jedinců později v ontogenezi.

Naopak byl pozorován vliv teploty na sociální učení v dospělosti. Agamy inkubované při nízké teplotě byly schopny vyřešit úkol, spočívající v otevření posuvných dvířek po shlédnutí úspěšného pokusu jiné agamy rychleji než jedinci inkubovaní při vysoké teplotě. Tento výsledek je možné prisuzovat odlišné schopnosti asociativního učení u jedinců z těchto dvou inkubačních teplot (Siviter et al., 2017).

U jedinců inkubovaných při stejných inkubačních teplotách jako v předchozí studii bylo také zjištěno, že agamy inkubované při vysoké teplotě jsou dlouhodobě úspěšnější při lovu potravy a také běhají rychleji než jedinci inkubovaní při nízké teplotě. Ve vnitrozemí Austrálie, kde se tento druh přirozeně vyskytuje, jsou vysoké teploty spojeny s menším množstvím přirozené potravy. Schopnost lépe lovit dává těmto

jedincům výhodu v prostředí s omezenými zdroji. Nicméně pomalejší jedinci narostli do větších rozměrů než jedinci z vysoké teploty, což ukazuje na možné trade-off mezi růstem a schopností lovit (Siviter, 2015).

U dospělých agam lepší schopnost asociativního učení a rychlejší růst u jedinců z nízké inkubační teploty či větší úspěšnost v lovu a rychlejší běh jedinců z vysoké inkubační teploty může významně ovlivnit zdatnost těchto jedinců. Bohužel v těchto studiích nebyl statisticky vyhodnocen možný vliv gonadálního pohlaví a počet testovaných jedinců byl nízký: 14 (Siviter, 2015) a 13 (Siviter et al., 2017). Nicméně alespoň počet jedinců a rovnoměrný poměr pohlaví byl podobný u těchto dvou inkubačních režimů. Z těchto výsledků lze predikovat, že inkubační teplota má významný vliv na zdatnost agam vousatých, ale nelze určit, zda tento druh odpovídá predikcím Charnov a Bullova modelu, protože nebyl vyhodnocen možný vliv pohlaví.

Dlouhodobý vliv teploty na chování byl prokázán také u gekončíka mexického (*Coleonyx elegans*). Jedinci inkubovaní při vysoké teplotě (30 °C) byli výrazně méně aktivní bez ohledu na pohlaví a nevykazovali tolik stereotypního antipredačního chování jako jedinci z nižších inkubačních teplot (26, 28 °C) při testování za stresujících podmínek (neznámé prostředí, simulovaný útok predátora). Oproti tomu se vliv teploty neprojevil na chování spojené s lovem a konzumací kořisti. Snížená aktivita jedinců z vysoké teploty při testování chování vyvolaného při stresující situaci může být vysvětlena sníženou kanalizací při vývoji za extrémní, ale stále životaschopné inkubační teploty (Trnik et al., 2011). Jedinci obou pohlaví byli ovlivněni inkubační teplotou, ale stejným způsobem, proto tento případ odpovídá predikci Charnov & Bullova modelu.

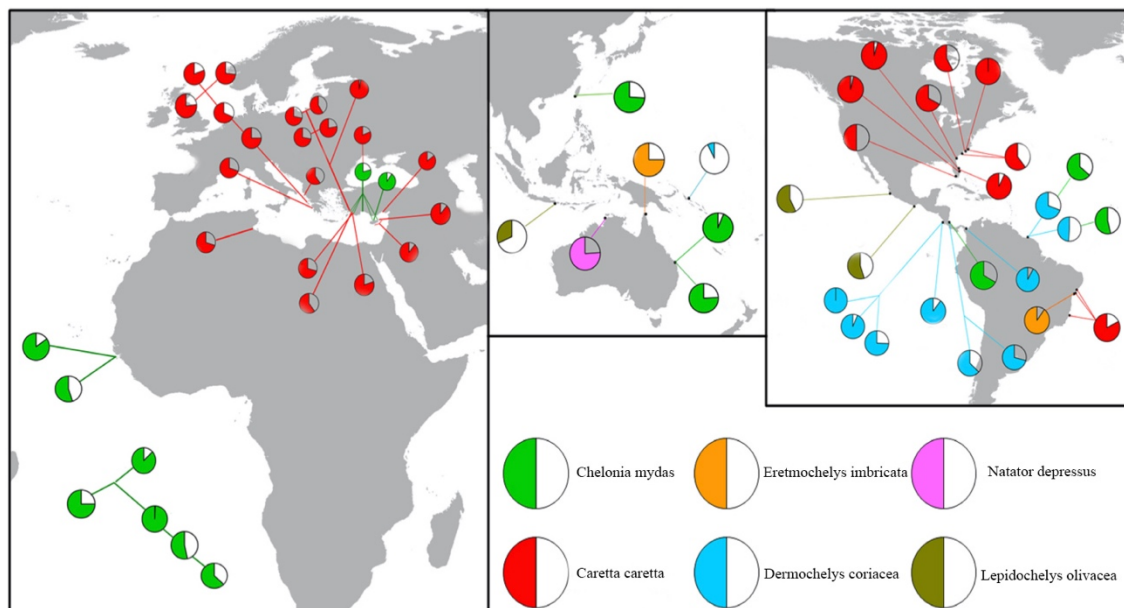
U leguána kubánského (*Cyclura nubila*) se mláďata z různých inkubačních teplot neliší ve velikosti a váze po vylíhnutí, ale teplota dlouhodobě ovlivňuje následný růst. Vyšší inkubační teploty mají za následek rychlejší růst leguánů obou pohlaví stejným způsobem po dobu jednoho roku, oproti pomaleji rostoucím jedincům z nízkých inkubačních teplot. Rozdíly ve velikosti indukované inkubační teplotou se vytratily 16 měsíců po vylíhnutí. Teplotní preference mláďat z různých inkubačních teplot se nelišily, nelze tedy rychlejší růst přisuzovat rozdílným teplotním optimům mláďat. Rychlejší růst jedinců z vysokých teplot může umožnit mláďatům přežít kritické období jejich života (Alberts et al., 1997). Výsledky této studie odpovídají predikci Charnov & Bullova

modelu, protože mláďata obou pohlaví odpovídala na inkubační teplotu stejným způsobem.

4. Závěr

Z výsledků zmíněných případových studií je zřejmé, že vliv inkubační teploty může mít výrazný dopad na fenotyp jedince. Kromě konstantních teplot mohou mít vliv i teplotní výkyvy (Shine, 2004), ale existují i příklady, kde se vliv fluktuujících teplotních spekter od konstantních teplot neliší (Steele & Warner, 2020). Některé vlivy teploty jsou krátkodobé a tyto rozdíly například ve velikosti se v průběhu růstu jedinců z různých inkubačních režimů vytrácejí a není tedy možné posoudit, nakolik se podílejí na výsledné zdatnosti jedinců. Taktéž výsledky u dlouhověkých druhů (krokodýlů, želv a haterie) mohou být odlišné od krátkověkých a středně se dožívajících taxonů. U části studií druhů s TSD bylo obtížné stanovit, zda odpovídají predikcím Charnov & Bullovy hypotézy, protože nebyly vlivy prostředí na jedince sledovány po delší časový úsek či nebyl rozlišen možný zavádějící vliv gonadálního pohlaví.

Charnov & Bullova hypotéza je v současné době asi nejuznávanějším modelem vysvětlující vznik a přetrvávání teplotně určeného pohlaví, ale je zde celá řada dalších hypotéz. Dále jsou uvedeny jen některé z nich. Existují hypotézy vysvětlující adaptivnost TSD, které nejsou založeny na rozdílné zdatnosti jedinců, ale jsou spojeny se selekcí na nevyrovnaný poměr pohlaví, který je typický pro druhy s TSD. První takovou hypotézou je *Group structure adaptation hypothesis*. Tato hypotéza ukazuje na skutečnost, že nevyrovnané poměry pohlaví mohou být adaptivní. Mořské želvy představují skupinu, která je charakterizovaná nevyrovnaným poměrem pohlaví v přírodě u mláďat (Obr. 3), ale i u dospělců. Všechny druhy mořských želv disponují TSD typu Ia (samec-samice). Některé studie tvrdí, že několikanásobně menší počty samců jsou následkem globální změny klimatu a že představují výraznou hrozbu pro vývoj populací mořských želv v budoucnu vzhledem ke stále rostoucím průměrným teplotám na Zemi (Jensen et al., 2018). Ukazuje se ale, že nízké počty samců nejsou limitující (Wright et al., 2012). Bylo totiž zjištěno, že se samci rozmnožují častěji než samice. Ty se rozmnožují každé 2–4 roky a samci i každý rok, navíc samci se mohou pářit i s více samicemi. I u populace karety obrovské (*Chelonia mydas*), kde se ze snůšek líhne 95 % samic, na každou reprodukcující se samici připadá 1,4 samce. Operační poměr pohlaví během páření je tedy mnohem více vyrovnaný, či dokonce samci převažují.



Obr. 3: Poměry pohlaví u mláďat z populací mořských želv. Barevně je zobrazeno množství samic a prázdné výseče zobrazují množství samců. Převzato a upraveno z Hays et al. (2014).

Dalším možným vysvětlením udržitelnosti TSD je hypotéza zvaná *Sib-avoidance hypothesis*. Tato hypotéza vysvětluje přetrvání TSD za účelem zamezení reprodukce mezi sourozenci produkcí jedinců stejného pohlaví ze všech vajec ve snůšce. K předcházení inbreedingu by tímto způsobem mělo docházet u filopatrických taxonů (Ewert & Nelson, 1991). Tato hypotéza je ale zpochybněna z několika důvodů. Na vejce v plazích hnízdech působí odlišné teploty vzhledem k tomu, v jaké hloubce se nachází, což způsobuje, že se z jedné snůšky líhnou často jedinci obou pohlaví. Navíc u dlouhověkých druhů, které se rozmnožují vícekrát za život, není možné vyloučit možnost inbreedingu. Taktéž se mnohdy samice páří s několika samci, a to jak u TSD, tak GSD druhů, což snižuje produkci inbredních mláďat.

Neutrální hypotézy představují další skupinu. Podle těchto modelů nezáleží, zda má taxon TSD nebo GSD, protože obě strategie jsou stejně výhodné. Když je tedy pohlaví určeno inkubační teplotou, fluktuace v průběhu roku či dlouhodobé posuny v teplotách se následně musí projevit v různých poměrech pohlaví. TSD je podle těchto hypotéz udržováno, protože se zatím nevyskytly mutace, které by způsobily přechod ke GSD (Bull, 1980). Dlouhověkost jedinců u taxonů s TSD, přesahy generací či genetická variabilita v citlivosti vůči teplotě jsou faktory vyrovnávající poměry pohlaví v dospělosti, díky kterým může být TSD neutrální (Valenzuela, 2004).

Z mého pohledu je stále nejpravděpodobnějším vysvětlením TSD Charnov & Bullova hypotéza, která také disponuje největší empirickou podporou. Studie Warner & Shine (2005) na krátkověké agamě (*Amphibolurus muricatus*) představuje případ, který naprosto odpovídá predikcím Charnov & Bullovy hypotézy vzhledem k maximální zdatnosti jedinců, kteří pocházeli z inkubačních teplot přirozeně produkující dané pohlaví. Provedení hormonálních manipulací za účelem odlišení vlivu gonadálního pohlaví od vlivu inkubační teploty je podle mého názoru jedinečná možnost, jak zjistit nakolik jsou rozdíly ve fenotypu spjaty s pohlavím jedince či naopak podmíněny teplotou. Několikaleté studium reprodukčního úspěchu jedinců z různých inkubačních teplot v polopřirozeném prostředí také posune výsledky studií blíže k situaci, která se odehrává v přírodě. V budoucnu je důležité mít na paměti jaké vlastnosti mohou být brány jako významné pro výslednou zdatnost u jednotlivých plazích taxonů. Myslím si také, že v následujících letech by se měly studie zaměřit převážně na krátkověké druhy plazů, u kterých bude možnost studovat jejich celoživotní zdatnost. Také by se mělo prostudovat co nejvíce druhů, jelikož vlivy prostředí se mezi taxony mohou lišit a nelze je generalizovat.

5. Literární zdroje

- Alberts, A. C., Perry, A. M., Lemm, J. M., & Phillips, J. A. (1997). Effects of incubation temperature and water potential on growth and thermoregulatory behavior of hatchling cuban rock iguanas (*Cyclura nubila*). *Copeia*, 1997, 766–776.
- Allsteadt, J., & Lang, J. W. (1995). Incubation temperature affects body size and energy reserves of hatchling american alligators (*Alligator mississippiensis*). *Physiological Zoology*, 68, 76–97.
- Amiel, J. J., Lindström, T., & Shine, R. (2014). Egg incubation effects generate positive correlations between size, speed and learning ability in young lizards. *Animal Cognition*, 17, 337–347.
- Amiel, J. J., & Shine, R. (2012). Hotter nests produce smarter young lizards. *Biology Letters*, 8, 372–374.
- Birchard, G. F. (2004). Effects of incubation temperature. In *Reptilian incubation: environment, evolution and behaviour* (pp. 103–123). Nottingham University Press.
- Blackburn, D. G. (2006). Squamate reptiles as model organisms for the evolution of viviparity. *Herpetological Monographs*, 20, 131–146.
- Booth, D. T. (2006). Influence of incubation temperature on hatchling phenotype in reptiles. *Physiological and Biochemical Zoology*, 79, 274–281.
- Brana, F., & Ji, X. (2000). Influence of incubation temperature on morphology, locomotor performance, and early growth of hatchling wall lizards (*Podarcis muralis*). *Journal of Experimental Zoology*, 286, 422–433.
- Bull, J. J. (1980). Sex determination in reptiles. *Review Literature And Arts Of The Americas*, 55, 181–220.
- Bull, J. J., & Vogt, R. C. (1979). Temperature-dependent sex determination in turtles. *Science*, 206, 1186–1188.
- Burger, J. (1990). Effects of incubation temperature on behavior of young black racers (*Coluber constrictor*) and kingsnakes (*Lampropeltis getulus*). *Journal of Herpetology*, 24, 158–163.
- Burger, J., Zappalorti, R. T., & Gochfeld, M. (1987). Developmental effects of incubation temperature on hatchling pine snakes *Pituophis melanoleucus*.

- Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology*, 87, 727–732.
- Charnier, M. (1966). Action of temperature on the sex ratio in the *Agama agama* (Agamidae, Lacertilia) embryo. *Comptes Rendus Des Seances de La Societe de Biologie et de Ses Filiales*, 160, 620–622.
- Charnov, E. L., & Bull, J. J. (1977). Why is sex environmentally determined? *Nature*, 266, 828–830.
- Clark, B. F., Amiel, J. J., Shine, R., Noble, D. W. A., & Whiting, M. J. (2014). Colour discrimination and associative learning in hatchling lizards incubated at ‘hot’ and ‘cold’ temperatures. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 68, 239–247.
- Cook, J. M. (2002). Sex determination in invertebrates. In *Sex ratios: concepts and research methods* (pp. 178–194). Cambridge: Cambridge University Press.
- Deeming, D. C., & Unwin, D. (2004). Reptilian incubation: Evolution and the fossil record. In *Reptilian incubation: environment, evolution and behaviour* (pp. 1–14). Nottingham University Press.
- Delmas, V., Baudry, E., Girondot, M., & Prevot-Julliard, A.-C. (2007). The righting response as a fitness index in freshwater turtles. *Biological Journal of the Linnean Society*, 91, 99–109.
- Elphick, M. J., & Shine, R. (1998). Longterm effects of incubation temperatures on the morphology and locomotor performance of hatchling lizards (*Bassiana duperreyi*, Scincidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 63, 429–447.
- Ewert, M. A., Jackson, D. R., & Nelson, C. E. (1994). Patterns of temperature-dependent sex determination in turtles. *Journal of Experimental Zoology*, 270, 3–15.
- Ewert, M. A., & Nelson, C. E. (1991). Sex determination in turtles: Diverse patterns and some possible adaptive values. *Copeia*, 1, 50–69.
- Flores, D., & Crews, D. (1995). Effect of hormonal manipulation on sociosexual behavior in adult female leopard geckos (*Eublepharis macularius*), a species with temperature-dependent sex determination. *Hormones and Behavior*, 29, 458–473.
- Flores, D., Tousignant, A., & Crews, D. (1994). Incubation temperature affects the behavior of adult leopard geckos (*Eublepharis macularius*). *Physiology and Behavior*, 55, 1067–1072.
- Freedberg, S., Ewert, M. A., & Nelson, C. E. (2001). Environmental effects on fitness and consequences for sex allocation in a reptile with environmental sex determination. *Evolutionary Ecology Research*, 3, 953–967.

- Freedberg, S., Stumpf, A. L., Ewert, M. A., & Nelson, C. E. (2004). Developmental environment has long-lasting effects on behavioural performance in two turtles with environmental sex determination. *Evolutionary Ecology Research*, *6*, 739–747.
- Gilbert, S. F. (2017). *Ecological developmental biology*. New York: Oxford University Press Inc.
- Godwin, J., Luckenbach, J. A., & Borski, R. J. (2003). Ecology meets endocrinology: environmental sex determination in fishes. *Evolution & Development*, *5*, 40–49.
- Gutzke, W. H. N., & Crews, D. (1988). Embryonic temperature determines adult sexuality in a reptile. *Nature*, *332*, 832–834.
- Hare, K. M., Daugherty, C. H., & Cree, A. (2002). Incubation regime affects juvenile morphology and hatching success, but not sex, of the oviparous lizard *Oligosoma suteri* (Lacertilia: Scincidae). *New Zealand Journal of Zoology*, *29*, 221–229.
- Hare, K. M., Longson, C. G., Pledger, S., & Daugherty, C. H. (2004). Size, growth, and survival are reduced at cool incubation temperatures in the temperate lizard *Oligosoma suteri* (Lacertilia: Scincidae). *Copeia*, *2*, 383–390.
- Hare, K. M., Pledger, S., & Daugherty, C. H. (2008). Low incubation temperatures negatively influence locomotor performance and behavior of the nocturnal lizard *Oligosoma suteri* (Lacertidae: Scincidae). *Copeia*, *1*, 16–22.
- Harlow, P. S., & Taylor, J. E. (2000). Reproductive ecology of the jacky dragon (*Amphibolurus muricatus*): an agamid lizard with temperature-dependent sex determination. *Austral Ecology*, *25*, 640–652.
- Hays, G., Mazaris, A., & Schofield, G. (2014). Different male vs. female breeding periodicity helps mitigate offspring sex ratio skews in sea turtles. *Frontiers in Marine Science*, *1*, 1–9.
- Janzen, F. J., & Paukstis, G. L. (1991). Environmental sex determination in reptiles: Ecology, evolution, and experimental design. *Quarterly Review of Biology*, *66*, 149–179.
- Jensen, M. P., Allen, C. D., Eguchi, T., Bell, I. P., LaCasella, E. L., Hilton, W. A., ... Dutton, P. H. (2018). Environmental warming and feminization of one of the largest sea turtle populations in the world. *Current Biology*, *28*, 154–159.
- Keevil, M. G., Hewitt, B. S., Brooks, R. J., & Litzgus, J. D. (2017). Patterns of intraspecific aggression inferred from injuries in an aquatic turtle with male-biased size dimorphism. *Canadian Journal of Zoology*, *95*, 393–403.

- Korpelainen, H. (1990). Sex ratios and conditions required for environmental sex determination in animals. *Biological Reviews*, *65*, 147–184.
- Kratochvíl, L., & Frynta, D. (2002). Body size, male combat and the evolution of sexual dimorphism in eublepharid geckos (Squamata: Eublepharidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, *76*, 303–314.
- Lang, J. W., & Andrews, H. V. (1994). Temperature-dependent sex determination in crocodylians. *Journal of Experimental Zoology*, *270*, 28–44.
- Ligon, D. B., Bidwell, J. R., & Lovern, M. B. (2009). Incubation temperature effects on hatchling growth and metabolic rate in the african spurred tortoise, *Geochelone sulcata*. *Canadian Journal of Zoology*, *87*, 64–72.
- Martínez-Juárez, A., & Moreno-Mendoza, N. (2019). Mechanisms related to sexual determination by temperature in reptiles. *Journal of Thermal Biology*, *85*, 102400.
- Nelson, N. J., Cree, A., Thompson, M. B., Keall, S. N., & Daugherty, C. H. (2004). Temperature-dependent sex determination in tuatara. In *Temperature dependent sex determination in vertebrates*. Smithsonian Books.
- Nelson, N. J., Thompson, M. B., Pledger, S., Keall, S. N., & Daugherty, C. H. (2006). Performance of juvenile tuatara depends on age, clutch, and incubation regime. *Journal of Herpetology*, *40*, 399–403.
- Pezaro, N., Doody, J. S., & Thompson, M. B. (2017). The ecology and evolution of temperature-dependent reaction norms for sex determination in reptiles: a mechanistic conceptual model. *Biological Reviews*, *92*, 1348–1364.
- Pokorná, M. J., & Kratochvíl, L. (2014). What was the ancestral sex-determining mechanism in amniote vertebrates? *Biological Reviews*, *91*, 1–12.
- Pough, R. H. (1980). The advantages of ectothermy of tetrapods. *The American Naturalist*, *115*, 92–112.
- Rhen, T., & Crews, D. (1999). Embryonic temperature and gonadal sex organize male-typical sexual and aggressive behavior in a lizard with temperature-dependent sex determination. *Endocrinology*, *140*, 4501–4508.
- Rhen, T., & Crews, D. (2000). Organization and activation of sexual and agonistic behavior in the leopard gecko, *Eublepharis macularius*. *Neuroendocrinology*, *71*, 252–261.
- Rhen, T., Elf, P. K., Fivizzani, A. J., & Lang, J. W. (1996). Sex-reversed and normal turtles display similar sex steroid profiles. *Journal of Experimental Zoology*, *274*, 221–226.

- Rhen, T., & Lang, J. W. (1994). Temperature-dependent sex determination in the snapping turtle: Manipulation of the embryonic sex steroid environment. *General and Comparative Endocrinology*, *96*, 243–254.
- Rhen, T., & Lang, J. W. (1995). Phenotypic plasticity for growth in the common snapping turtle: effects of incubation temperature, clutch, and their interaction. *The American Naturalist*, *146*, 726–747.
- Roosenburg, W. M., & Kelley, K. C. (1996). The effect of egg size and incubation temperature on growth in the turtle, *Malaclemys terrapin*. *Journal of Herpetology*, *30*, 198–204.
- Schořálková, T., Kratochvíl, L., & Kubička, L. (2017). Temporal organization: A novel mechanism of hormonal control of male-typical sexual behavior in vertebrates. *Physiology & Behavior*, *170*, 151–156.
- Schulte, P. M., Healy, T. M., & Fangué, N. A. (2011). Thermal performance curves, phenotypic plasticity, and the time scales of temperature exposure. *Integrative and Comparative Biology*, *51*, 691–702.
- Shine, R. (2004). Seasonal shifts in nest temperature can modify the phenotypes of hatchling lizards, regardless of overall mean incubation temperature. *Functional Ecology*, *18*, 43–49.
- Shine, R., Elphick, M. J., & Donnellan, S. (2002). Co-occurrence of multiple, supposedly incompatible modes of sex determination in a lizard population. *Ecology Letters*, *5*, 486–489.
- Shine, R., Elphick, M. J., & Harlow, P. S. (1997). The influence of natural incubation environments on the phenotypic traits of hatchling lizards. *Ecology*, *78*, 2559–2568.
- Shine, R., & Harlow, P. S. (1996). Maternal manipulation of offspring phenotypes via nest-site selection in an oviparous lizard. *Ecology*, *77*, 1808–1817.
- Singh, S. K., Das, D., & Rhen, T. (2020). Embryonic temperature programs phenotype in reptiles. *Frontiers in Physiology*, *11*, 35.
- Siviter, H. (2015). Does egg incubation temperature impact the long-term behaviour and cognition of bearded dragons (*Pogona vitticeps*)? *A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements of the University of Lincoln for the MSc by Research*.
- Siviter, H., Charles Deeming, D., Rosenberger, J., Burman, O. H. P., Moszuti, S. A., & Wilkinson, A. (2016). The impact of egg incubation temperature on the personality

- of oviparous reptiles. *Animal Cognition*, 20, 109–116.
- Siviter, H., Deeming, D. C., van Giezen, M. F. T., & Wilkinson, A. (2017). Incubation environment impacts the social cognition of adult lizards. *Royal Society Open Science*, 4, 170742.
- Stearns, S. C. (1989). The evolutionary significance of phenotypic plasticity. *BioScience*, 39, 436–445.
- Steele, A. L., & Warner, D. A. (2020). Sex-specific effects of developmental temperature on morphology, growth and survival of offspring in a lizard with temperature-dependent sex determination. *Biological Journal of the Linnean Society*, 20, 1–16.
- Steele, A. L., Wibbels, T., & Warner, D. A. (2018). Revisiting the first report of temperature-dependent sex determination in a vertebrate, the african redhead agama. *Journal of Zoology*, 306, 16–22.
- Steyermark, A. C., & Spotila, J. R. (2001). Effects of maternal identity and incubation temperature on snapping turtle (*Chelydra serpentina*) growth. *Functional Ecology*, 15, 624–632.
- Sues, H.-D. (2019). *The Rise of Reptiles: 320 Million Years of Evolution*. Baltimore: Johns Hopkins University Press.
- Thompson, M. B., Nelson, N. J., Pledger, S., Keall, S. N., & Daugherty, C. H. (2004). Egg mass determines hatchling size, and incubation temperature influences post-hatching growth, of tuatara *Sphenodon punctatus*. *Journal of Zoology*, 263, 77–87.
- Tousignant, A., & Crews, D. (1995). Incubation temperature and gonadal sex affect growth and physiology in the leopard gecko (*Eublepharis macularius*), a lizard with temperature-dependent sex determination. *Journal of Morphology*, 224, 159–170.
- Trník, M., Albrechtová, J., & Kratochvíl, L. (2011). Persistent effect of incubation temperature on stress-induced behavior in the yucatan banded gecko (*Coleonyx elegans*). *Journal of Comparative Psychology*, 125, 22–30.
- Valenzuela, N. (2004). Temperature-dependent sex determination. In *Reptilian incubation: environment, evolution and behaviour* (pp. 211–227). Nottingham University Press.
- Valenzuela, N., Adams, D. C., & Janzen, F. J. (2003). Pattern does not equal process: Exactly when is sex environmentally determined? *The American Naturalist*, 161, 676–683.

- Valenzuela, N., & Lance, V. (2004). *Temperature dependent sex determination in vertebrates*. Washington, D.C.: Smithsonian Books.
- van Damme, R., Bauwens, D., Braña, F., & Verheyen, R. F. (1992). Incubation temperature differentially affects hatching time, egg survival, and hatchling performance in the lizard *Podarcis muralis*. *Herpetologica*, *48*, 220–228.
- van Winkel, D., Baling, M., & Hitchmough, R. (2018). *Reptiles and amphibians of New Zealand: A field guide*. London: Bloomsbury Wildlife.
- Viets, B. E., Tousignant, A., Ewert, M. A., Nelson, C. E., & Crews, D. (1993). Temperature-dependent sex determination in the leopard gecko, *Eublepharis macularius*. *Journal of Experimental Zoology*, *265*, 679–683.
- Warner, D. A., Addis, E., Du, W., Wibbels, T., & Janzen, F. J. (2014). Exogenous application of estradiol to eggs unexpectedly induces male development in two turtle species with temperature-dependent sex determination. *General and Comparative Endocrinology*, *206*, 16–23.
- Warner, D. A., Mitchell, T. S., Bodensteiner, B. L., & Janzen, F. J. (2020). Sex and incubation temperature independently affect embryonic development and offspring size in a turtle with temperature-dependent sex determination. *Physiological and Biochemical Zoology*, *93*, 62–74.
- Warner, D. A., & Shine, R. (2005). The adaptive significance of temperature-dependent sex determination: Experimental tests with a short-lived lizard. *Evolution*, *59*, 2209–2221.
- Warner, D. A., & Shine, R. (2007). Fitness of juvenile lizards depends on seasonal timing of hatching, not offspring body size. *Oecologia*, *154*, 65–73.
- Warner, D. A., & Shine, R. (2008). The adaptive significance of temperature-dependent sex determination in a reptile. *Nature*, *451*, 566–568.
- Wright, L. I., Stokes, K. L., Fuller, W. J., Godley, B. J., McGowan, A., Snape, R., ... Broderick, A. C. (2012). Turtle mating patterns buffer against disruptive effects of climate change. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *279*, 2122–2127.
- Yntema, C. L. (1976). Effects of incubation temperatures on sexual differentiation in the turtle, *Chelydra serpentina*. *Journal of Morphology*, *150*, 453–461.