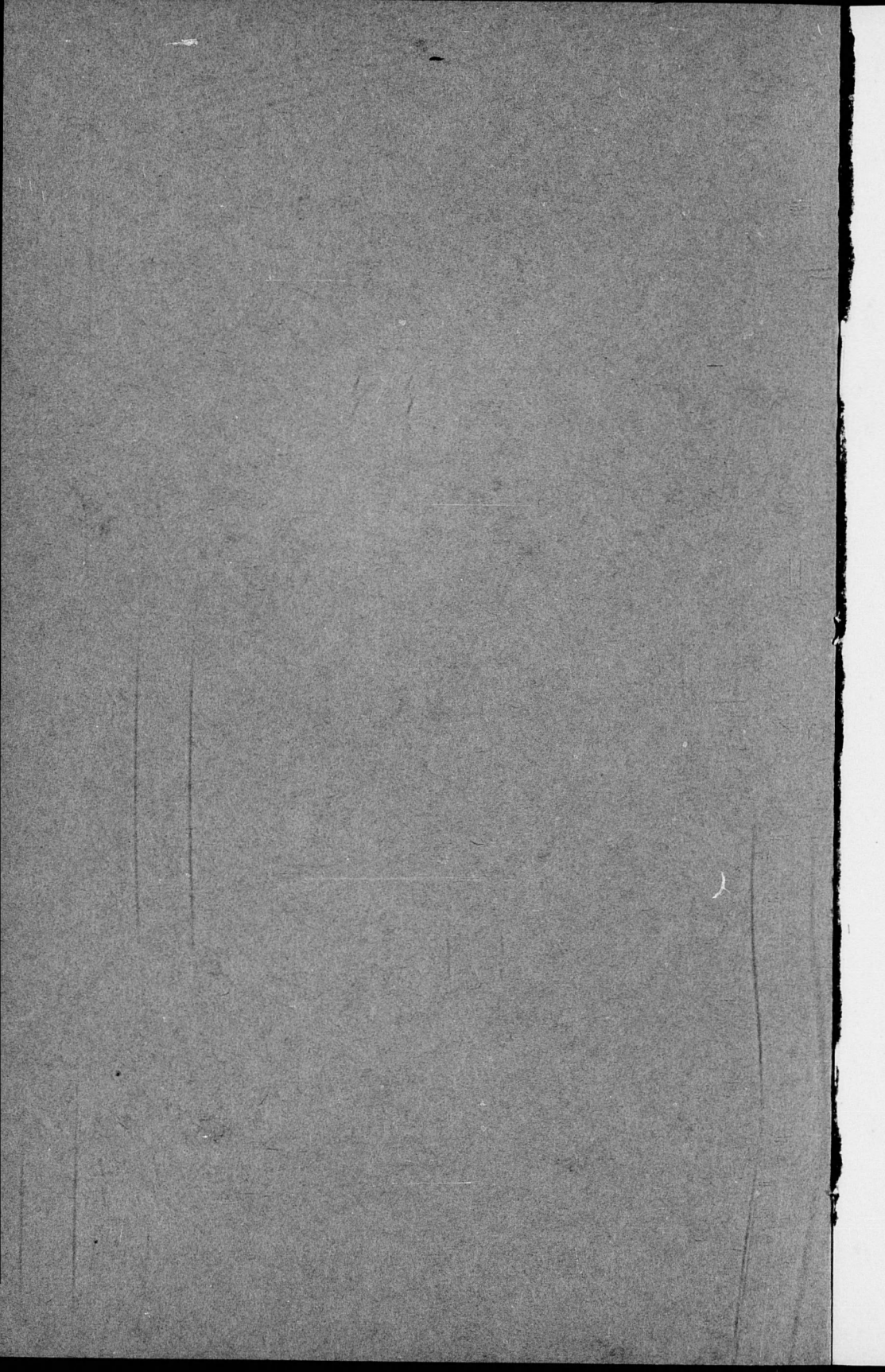


B. 1885, I, 37.





Br 1885, I, 37

VERSLAG van de onderzoekingen door den ondergeteekende verricht
aan de Nederlandsche tafel van het Zoölogisch Station van
prof. Anton Dohrn te Napels, van 15 Maart—15 Juli 1885.

Een geschikt onderwerp om in Napels te onderzoeken, schenen mij eenige punten uit de ontwikkeling der beenige visschen, daar ik mij vroeger eenigermate met dit deel der embryologie vertrouwd gemaakt had, maar vooral omdat de meeste species der Teleostei van de Middellandsche Zee gedurende de maanden Maart tot Augustus hare eieren afleggen.

Dank zij der uitstekende inrichting van het Zoölogisch Station en der welwillendheid van het personeel, stond mij steeds eene ruime hoeveelheid materiaal ten dienste en kon ik eieren en vrijzwemmende embryonen onderzoeken en conserveeren van de volgende genera:

Syngnathus acus.

Syphonostomus sp.

Nerophis sp.

Hippoeampus sp.

Gobius capito en *G. niger*.

Blennius ocellaris en nog twee sp.

Belone acus.

Atherina sp.

Mugil sp.

Lepadogaster bimaculatus.

Eenige eiersoorten, wier herkomst nog niet bekend is, en eindelijk een overgroot aantal pelagische eieren, die dikwijls bij honderdtallen in den „Auftrieb“ voorhanden waren.

Het onderzoek van levende embryonen geschiedde in objectglazen met meer of min diepen „Hohlschliff“. Ook de methode van Engelmann, de objecten in een hangenden druppel te suspendeeren, werd met goed gevolg aangewend. Als conservatievloeistof gebruikte ik in de eerste plaats eene verzadigde oplossing van sublimaat in zeewater. Deze leverde echter voor Teleostei-embryonen niet zulke goede resultaten als bij andere objecten. De embryonen worden hard en broos, jeugdige stadiën worden zelfs gedeeltelijk gemacereerd door eene korte

inwerking van sublimaat. Voor de jongste ontwikkelingsstadiën (klieving en omgroeiing van het blastoderm) deed uitstekende diensten de door Agassiz en Whitman (on the development of some Pelagic Fish-eggs. Proc. of the American Academy of Arts and Sciences) aanbevolene vloeistof, bestaande uit gelijke deelen chroomzuur van 1% en platina-chlorid van $\frac{1}{4}$ %. Deze vloeistof moet 24 uren inwerken, nadat de eieren door een verblijf van 5—10 minuten in osmiumzuur van $\frac{1}{4}$ % gedood zijn. Een voordeel van dit reagens is, dat de dooier zich na conservatie gemakkelijk in fijne coupes laat snijden, terwijl ze bij andere reagentia hard en broos wordt. Met afwisselend gevolg werden nog aangewend: chroomzuur, alcohol, Kleinenberg's pikrinzwavelzuur en Perennyi's vloeistof.

Aanvankelijk richtte ik mijn onderzoek op de ontwikkeling der zwemblaas. Daar dit echter geheel geschieden moet op microtomische doorsneden van geconserveerd materiaal en dus in ieder laboratorium kan geschieden, wendde ik mij spoedig tot het bestudeeren der levende embryonen, waartoe de gelegenheid aan het Zoölogisch Station bij uitstek gunstig is, eerstens door de groote hoeveelheid levend materiaal, waarover men dagelijks te beschikken heeft, en vooral ook door de volkomene doorzichtigheid van de eieren van vele in de Golf van Napels voorkomende species. De grootere technische bezwaren verbonden aan het onderzoek der Teleostei-ontwikkeling worden hierdoor eenigszins vergoed.

Onder de doorzichtige eieren bekleelen die van Belone eene eerste plaats, in minder mate die van Blennius, vooral echter de kleine glasheldere pelagische eieren. Onder deze laatste vond ik drie species die in vroeger jaren nog niet in den Auftrieb bemerkt waren en van bijzondere grootte waren:

1. Een ei met diameter van ruim 2 mM.; de dooiermassa vult het chorion geheel; het chorion is aan de buitenzijde voorzien van een polygonale (meest zeshoekige) structuur, welke bij nader onderzoek blijkt samengesteld te zijn uit kleine opstaande lijstjes buiten op het chorion. Dooier en chorion zijn glashelder.

2. Het grootste door mij gevondene pelagische ei, met diameter van 4 mM. De dooiermassa vult het chorion niet geheel, doch heeft slechts een diameter van ruim 2 mM. Het chorion vertoont geenerlei structuur en is, evenals dooier en embryo, glashelder.

3. Een dergelijk ei, doch van 1,9 mM. diameter. Ook hier heeft de dooiermassa slechts den halven diameter van het chorion. Eveneens glashelder.

De species, genoemd onder 1 en 2 waren prachtige objecten tot onderzoek, echter in zeer kleinen getale aanwezig. De bepaling der herkomst dezer eieren is in bewerking bij een der beambten van het station.

Voorloopig kan ik het volgende als resultaat mijner onderzoekingen aangeven.

I. De ontwikkeling der zwemblaas.

Aan de weinige seriën van doorsneden voor dit doel vervaardigd, vond ik het volgende:

Reeds voordat de zwemblaas als zoodanig functioneert, is ze voorzien van een zeer gecompliceerden bloedsomloop. Bij vele species treedt reeds vroeg eene soort bloedvaatsklief op, waarvan ik ontwikkeling en bouw later hoop te onderzoeken.

De eerste aanleg der zwemblaas wordt gevormd door eene dorsale uitstulping van den darmwand. Deze groeit eerst in achterwaartsche richting, als ze zich verwijlt om de eigenlijke zwemblaas te vormen richt ze zich daarbij (bij *Syngnathus*, *Gobius*, *Blennius*) weder voorwaarts, waardoor de overgang van ductus pneumaticus in zwemblaas bij genoemde genera (physoclysten) aan het achtereinde der zwemblaas gelegen is. Misschien staat dit in verband met het later gesloten worden en atrophieeren van den ductus pneumaticus.

II. De ontwikkeling van het hart.

Nadat de kopdarm zich ventraal gesloten heeft, vindt men aan de onderzijde van het embryo dicht achter de oogblazen een band van mesoblastische cellen, welke zich van beide zijden komende, ventraal vereenigd hebben. Deze cellen zijn afkomstig van de dan nog vrij groote hoeveelheid indifferente mesoblastische cellen, die zich voor in het embryo bevinden. In het midden dezer band vormt zich eene kleine ophooping van cellen, welke het uitgangspunt is voor de zich vormende hartbuis. In een enkel geval (bij een pelagisch ei) zag ik duidelijk eene kleine ronde opening op deze plaats. Van hier uit vormt zich het hart dat oorspronkelijk den vorm van een van voren open zakje heeft, met een wand van één cellenlaag dikte. Dit zakje verlengt zich in voorwaartsche richting tot eene buis waarvan de frontale (veneuse) opening zich trechtervormig verwijdt. Het hart is van den eersten aanleg af altijd meer of minder naar links gewend. Bij *Belone*, waar ik de ontwikkeling het best kon vervolgen, is de wending naar links zeer gering. In het stadium toch, waarin het hart nog geheel onder den kop van het embryo ligt, ligt de rechterwand van het hart juist in het mediane vlak van het embryo, de veneuse hartsopening dus van boven gezien geheel onder het linkeroog.

De randen der veneuse opening van het hart zetten zich voort in een zeer dun wandje, dat zich aan de omgeving van het hart vasthecht. Het hart groeit nu meer en meer in voorwaartsche richting tot dat de veneuse opening vóór het embryo komt te liggen. Hare dunne randen gaan met de voorwaartsche beweging mede en hechten zich nu dus eenerzijds aan de binnenzijde der epiblastische omkleeding van den dooier, anderzijds aan de dooiermassa, die bij de beenvisschen niet door het hypoblast omgroeid wordt. Het hart staat nu (door de veneuse opening) in open communicatie met de ruimte tusschen den dooier en

zijn omhulsel, welke ruimte vóór den kop vrij aanzienlijk is, doordat de dikte van het embryo dooier en epiblast uit elkander dringt.

De hartbuis zelf is geheel los, slechts aan hare beide uiteinden vastgehecht. Zij is reeds lang begonnen te contraheeren, in dien zin, dat de contractie van het voorste, veneuse, naar het achterste, arterieuse eind verloopt, waardoor de vloeistof die den dooier omspoeld door het hart in het lichaam van het embryo gezogen wordt. De wand, die oorspronkelijk uit één cellenlaag bestaat, differentieert zich in twee lagen, waarvan weldra de binnenste een endotheliaal karakter aanneemt, de buitenste tot spierwand wordt. *Het endotheel van het hart is dus van mesoblastischen oorsprong.*

Reeds vrij spoedig treedt aan den rechterhartswand eene verdikking op. Deze verdikking geeft aanleiding tot de vorming eener uitzakking, die zich vergroot en later tot de hartkamer wordt.

Het hart wikkelt zich nu meer en meer op; hartkamer en voorkamer snoeren zich meer af, totdat het hart eindelijk zijne definitieve gedaante verkregen heeft. Terwijl dit echter geschiedt, draait het hart om zijn arterieuse uiteinde zoodanig, dat het arterieuse einde vooraan, het veneuse achteraan komt te liggen, het gevolg hiervan, dat de kop zich meer en meer afsnoert, het embryo den dooier in zich opneemt en de dooier voortluend kleiner wordt.

Bij de diverse genera der Teleostei komen vele verschillen. Lag bij Belone, Blennius, Gobius en andere het hart bijna geheel in de lengte-as van het embryo bij de pelagische eieren is het hart zoo sterk gekromd, dat het een kwartcirkel vormt. Daardoor ligt de veneuse opening niet vóór het embryo, doch geheel aan de linkerzijde.

Tusschen deze beide uitersten nam ik verschillende tusschenvormen waar.

III. De ontwikkeling der bloedvaten.

Bij de beschrijving van de ontwikkeling der bloedvaten wensch ik het volgende op den voorgrond te stellen. Daar het onderzoek der embryologie der Telostei bijna uitsluitend geschied is op microtomische doorsneden der geheel ondoorzichtige zalm- en forelembryonen, heerscht de meening dat, evenals dit bij andere diergroepen beschreven is, de kiembladen als zoodanig (d. i. als samenhangende blaasjes) groeien en op die wijze ook de verschillende organen vormen. Iedere cel op zichzelf zou dus passief zijn. Een geheel ander denkbeeld verkrijgt men van de zaak door het onderzoek der levende embryonen. Men ziet de afzonderlijke cellen, met name die van het mesoblast zich zelfstandig door amoeboid bewegingen en het vormen van dikwijls zeer lange protoplasma-uitloopers, verplaatsen en over den dooier, die niet met hypoblast bekleed is, voortkruipen om zich naar bepaalde plaatsen te begeven, als handelden ze volgens eigen wil en bewustzijn. Bij de vorming van het hart, zoowel als bij de processen in het lichaam van het embryo, speelt deze zelfstandige beweging der cellen eene groote

rol. Uit het volgende zal blijken, dat de vorming der eerste bloedvaten geheel op dit verschijnsel berust.

Merkwaardig mag het genoemd worden dat de nieuwvorming van bloedvaten bij zekere pathologische toestanden op eene wijze geschiedt, zeer gelijkend op de vorming der eerste vaten in het embryo.

Belone was ook hier het object der onderzoeking. Bij een embryo van 5 dagen bemerkt men aan beide zijden van het embryo eene vlakke laag van bleeke mesoblastcellen. Deze laag noemde Kuppfer den »Keimsaum". Deze kiemzoom, oorspronkelijk beginnend bij de gehoorblaasjes en doorlopend tot ongeveer de helft van de lengte van het embryo, heeft de breedte van ongeveer een derde der breedte van het embryo; iets later strekt zij zich, doch smaller, ook langs den kop uit. Uit den rand van den kiemzoom ziet men nu de cellen afzonderlijk of in groepjes uittreden en zich door amoëboïde bewegingen van het embryo verwijderen. De eerst uittredende cellen begeven zich bijna allen naar eene plaats vóór den kop. Reeds terwijl ze nog in haren loop zijn treedt een bruin, korrelig pigment in deze cellen op. Ze vereenigen zich vóór den kop tot eene blijvende groep van pigmentcellen, die onderling door stevige uitloopers verbonden zijn en direct op den dooier liggen. Een vrij groot aantal uit den kiemzoom afkomstige cellen, met of zonder pigment, verspreiden zich over den dooier. De niet gepigmenteerde vormen het materiaal voor de later optredende bloedvaten.

Heeft dit proces eenigen tijd geduurd, dan vereenigen zich de cellen van den kiemzoom aan zijne buitenranden. Hier vormt zich nu een bloedvat, dat begint bij het embryo achter de gehoorblaasjes en naar voren verloopt tot bij de veneuse hartopening. De wanden van dit vat worden gevormd door de cellen van den kiemzoom, die zich onderling door lange uitloopers vereenigen, daarna zich meer aaneensluiten en zich afplatten, waardoor de wand meer en meer gesloten wordt. Op dezelfde wijze vormt zich een groot vat, dat achter aan het embryo begint onder den staart, die reeds afgesnoerd is, en dat als een meridiaan om den dooier loopt om ook vóór de veneuse hartopening te eindigen. Ook bij dit vat ontstaat het ~~oamen~~ vóór zijn wand, en wel door de vorming eener groeve in de dooiermassa. In deze groeve liggen van afstand tot afstand pigmentcellen. Aanvankelijk vormt zich de vaatwand alleen op den bodem dezer groeve en hecht zich met zijn opstaande randen tegen de onderzijde van de epiblastische bekleding van den dooier. Eerst langzamerhand sluiten zich de randen over de groeve aaneen.

In de ruimte vóór de veneuse hartopening openen zich dus nu de beide zijdelingsche vaten en het meridiaanvat. Zeer langzaam sluiten zich nu deze drie vaten aaneen: eindelijk sluiten ze zich ook aan de veneuse hartopening aan, zoodat het hart niet meer communiceert met de geheele ruimte tusschen den dooier en zijne bekleding, doch alleen met de drie dooiervaten. Dit is de typische dooierbloedsomloop der meeste door mij onderzochte species. Eenigen tijd blijft hij aldus bestaan, doch compliceert zich later door de vorming van menigvaldige

zijtakken. Deze laatste ontstaan uit kleine uitbochtigen, die op vele plaatsen aan het vat optreden en aan wier top zich steeds een cel bevindt. De verlenging dezer uitbochtigen tot zijvaten geschiedt eveneens door de actieve amoëboïde bewegingen der mesoblastcellen. Hoezeer in deze cellen op dat oogenblik als het ware eene innerlijke neiging tot vaatvorming bestaat, blijkt uit het feit dat groepjes dezer cellen, die zich vrij op den dooier bevinden, ook reeds samen een klein buisje gaan vormen, dat eerst later aan het algemeene buizenet wordt aangesloten.

Toevallig kon ik aan een bijzonder gunstig object, een glashelder embryo, namelijk aan dat van het onder 2 genoemde pelagische ei, de vaatvorming in het lichaam van het embryo waarnemen. Het geschiedt hier op volkomen dezelfde wijze als op den dooier, doordat mesoblastcellen zich in rijen rangschikken, zich afplatten, enz.

Bij de meeste pelagische eieren vormen zich geen vaten op den dooier. Slechts bij de onder 1 en 2 genoemde embryonen zag ik vaten op den dooier optreden, op dezelfde wijze als bij Belone.

IV. De ontwikkeling der bloedcellen.

Veel moeite heb ik mij gegeven om in dit duistere punt meer licht te verschaffen. Hierbij heb ik zelf de overtuiging gekregen dat de bloedcellen altijd van mesoblastischen oorsprong zijn; de gronden voor deze overtuiging kan ik echter nog niet voor publicatie geschikt achten, daar ze nog aan een nader onderzoek moeten onderworpen worden.

Reeds vroeg worden bij Belone bleke cellen met kleine uitlooptjes in den bloedstroom medegevoerd. Deze moeten van denzelfden aard zijn als de uit den kiemzoom afkomstige mesoblastcellen, waar zij uiterlijk ook niet van te onderscheiden zijn. Aanhoudend toch ziet men enkele van deze eerste bloedcellen aan den zich vormenden vaatwand vastkleven, zich afplatten en aldus mede den vaatwand samenstellen.

Het feit dat bij verscheidene species van pelagische eieren nog geen bloedcellen in circulatie zijn, terwijl de dooier reeds lang geabsorbeerd is, maakt de onderstelling dat zij van dooier-elementen afkomstig zouden zijn, zeer onwaarschijnlijk.

V. De herkomst der vrije kernen van het parablast.

Ook hier bleek het onderzoek van levende, zich onder normale omstandigheden ontwikkelende eieren, van groote waarde te zijn.

Agassiz en Whitman (on the development of some Pelagic Fish-eggs. Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences) komen na het onderzoek van blastodermen, die volgens hunne bovenvermelde methode geconserveerd zijn, tot de conclusie, dat de vrije kernen, die reeds spoedig optreden in het periblast (Ag. en Wh. = parablast van Hoffmann), afkomstig zijn uit de randcellen van het blastoïem. Deze

meening heb ik kunnen bevestigen door het onderzoek van levende Belone-eieren, waar ik verscheidene malen het volgende waarnam:

De randcellen van het blastoderm gaan vlak in het periblast over, zooals Agassiz en Whitman dit beschrijven. Men ziet volstrekt geen afscheiding of celwand tusschen beide. Houdt men nu eenige dezer randcellen in het oog, dan ziet men dat de celkernen, die eerst bolronde, nauwlijks zichtbare, bleeke lichaampjes waren, langzamerhand spoelvormig worden. Aan beide polen der spoel hoopt zich het protoplasma een weinig op. Daarna verdwijnt de kern voor het oog. Na een half uur worden de deelingsproducten weder zichtbaar en nu bleek het dat de eene helft der kern in de cel was gebleven, terwijl de andere helft in het periblast was komen te liggen. Beide kernen begonnen zich spoelig weder te deelen, waardoor het aantal vrije kernen snel toenam. Dit laatste wordt nog bevorderd door een ander verschijnsel dat ik gelijktijdig daarbij waarnam. De wanden, namelijk van de buitenste randcellen, worden langzamerhand gedestrueerd; men ziet ze langzaam versmelten met de periblastmassa. Hierdoor komen natuurlijk de kernen der cellen ook vrij in het periblast te liggen. Deze afbraak aan den rand van het blastoderm duurt slechts vrij kort (slechts 2 of 3 rijen cellen verdwijnen aldus): zij weegt natuurlijk niet op tegen de vergrooing van het blastoderm, ten gevolge der celdeeling. Beide verschijnselen, het deelen en uittreden der kernen, zoowel als het verdwijnen der celgrenzen, heb ik herhaaldelijk bij Belone-eieren waargenomen en afgebeeld, en ook aan geconserveerde en gekleurde blastodermen kunnen bevestigen. Dat het een normaal verschijnsel is, blijkt uit het feit dat de eieren, weder in circuleerend water gebracht, zich volkomen normaal verder ontwikkelden.

Door het bewijs dat de bloedvaten en hoogstwaarschijnlijk ook de bloedcellen van mesoblastischen oorsprong zijn en dat de vrije kernen uit het blastoderm afkomstig zijn, wordt mijns inziens een groote steun onttrokken aan de parablast-theorieën van His en Waldeyer, voor zoover betreft de ontwikkeling der Teleostei.

Een groot aantal teekeningen werden door mij vervaardigd betreffende den bloedsomloop in den kop der Teleostei-embryonen, in de hoop deze later volledig te kunnen beschrijven.

Ten einde de ontwikkeling van hart en bloedvaten ook bij andere diergroepen te kunnen nagaan, werden door mij een groot aantal reptileneieren geconserveerd, met name van *Lacerta muralis*, die daar zeer talrijk voorkomt.

In de maand Juli wenschte ik kunstmatige bevruchtingen van Julis en Scorpaena in het werk te stellen, om betreffende de eerste kerndeeling en de herkomst der vrije kernen mijne onderzoekingen te kunnen vergelijken met die van prof. C. K. Hoffmann en andere auteurs: de beruchte Napolitaansche typhus belette mij echter toen het Zoölogisch Station te bezoeken. De lange duur dezer ziekte, die mijn verblijf te

Napels met ruim vijf weken verlengde, en de reconvalescentie daarna, verhinderden mij in het schrijven van dit verslag, reden waarom het niet binnen den gestelden termijn van zes weken verscheen.

Ik mag mijn verslag niet eindigen alvorens mijne erkentelijkheid betuigd te hebben aan de Nederlandsche Regeering, die mij in staat stelde gedurende vier maanden het Zoölogisch Station te Napels te bezoeken; tevens mijn dank aan de commissie van hoogleeraren, die de welwillendheid had mij daartoe bij de Regeering voor te dragen.

Utrecht, 2 October 1885.

K. F. WENCKEBACH.

