



Over den bouw en de ontwikkeling van de broedzakken van *Sphaerium rivicola* Lm.

<https://hdl.handle.net/1874/281674>

Aqu. 192, 1924

OVER DEN BOUW EN DE
ONTWIKKELING VAN DE
BROEDZAKKEN VAN
SPHAERIUM RIVICOLA LM

J. A. W. GROENEWEGEN JR

s.
cht

4

OVER DEN BOUW EN DE ONTWIKKELING VAN
DE BROEDZAKKEN VAN SPHAERIUM RIVICOLA Lm

Diss Utrecht 1924

OVER DEN BOUW EN DE ONTWIKKELING VAN DE BROEDZAKKEN VAN SPHAERIUM RIVICOLA Lm

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN
GRAAD VAN DOCTOR IN DE WIS- EN NATUUR-
KUNDE AAN DER RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT,
OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS
DR A. J. P. VAN DEN BROEK, HOOGLEERAAR
IN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE, VOLGENS
BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT
TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT
DER WIS- EN NATUURKUNDE TE VERDEDIGEN
OP DINSDAG 1 JULI 1924, DES NAMIDDAGS TE
3 UUR DOOR

JOANNES ANTONIUS WIJNANDUS GROENEWEGEN Jr
GEBOREN TE ROTTERDAM



H. J. PARIS
AMSTERDAM — 1924

AAN
MIJN OUDERS

INHOUD.

	Blz.
I. INLEIDING	1
II. MATERIAAL EN TECHNIEK	6
III. DE BOUW VAN DE KIEUWEN VAN SPHAERIUM . . .	8
<i>Macroscopisch</i>	8
<i>Microscopisch</i>	11
<i>Bouw van de segmenten</i>	13
<i>De kieuwholte</i>	20
<i>De bloedcellen</i>	21
IV. DE BROEDZAKKEN	25
<i>Aantal zakken en embryo's</i>	26
<i>Versmelten van broedzakken</i>	34
<i>Vorm van de broedzakken</i>	38
<i>Histologie van den wand</i>	38
<i>Ontstaan van de komplexe kernen</i>	45
<i>Literatuur</i>	47
V. HET ONTSTAAN VAN DE BROEDZAKKEN	53
<i>De weg, dien de eieren volgen om in de kieuwen</i> <i>te komen</i>	53
<i>Het ontstaan van den broedzak om het ei</i> . . .	57
<i>Literatuur. De rol, die de bloedcellen bij het ont-</i> <i>staan van de broedzakken spelen</i>	63
<i>Rijpingsdeelingv an het ei. Uitstooten van den nu-</i> <i>cleolus</i>	67
<i>Groei van den broedzak</i>	67
<i>Ontstaan van de buitenste laag van den wand</i> .	68
VI. DE VOEDING VAN DE EMBRYO'S	69
<i>Literatuur</i>	69
<i>Eigen waarnemingen</i>	72
VII. SAMENVATTING DER RESULTATEN	81
VIII. LITERATUUR	83

I. Inleiding.

„Im übrigen bestehen in den Darstellungen über Bildung und Aufbau der Brutkapseln im einzelnen noch so viele Widersprüche, dass ein völlig klares Urteil darüber sich zur Zeit nicht gewinnen lässt.“ Met deze woorden besluit *Meisenheimer* in zijn groote werk „Geschlecht und Geschlechter im Tierreich“ de bespreking van de broedzakken van *Sphaerium*. Wie zich de moeite geeft de literatuur over dit onderwerp na te lezen, zal hem gelijk moeten geven. Niet alleen zijn de beschrijvingen vol tegenstrijdigheden, maar zij zijn bovendien onvolledig en laten menige vraag onbeantwoord. Goede afbeeldingen ontbreken, men moet zich met schema's tevreden stellen.

De onvolledigheid van de literatuur heeft haar oorzaak voornamelijk in het feit, dat voor de meeste onderzoekers, die ons iets over de broedzakken mededeelen, het bestudeeren van deze slechts bijzaak, het onderzoek van de ei-klieving en de organogenese daarentegen hoofdzaak was. Slechts weinige wijdden een speciaal onderzoek aan de broedzakjes, waarin deze ontwikkelingsprocessen plaats hebben: *Poyarkoff* in 1910 en *Mej. Schereschewsky* in 1911. Dit wil echter niet zeggen, dat er in het werk van de anderen geen belangrijke feiten te vinden zijn: *Stepanoff's* publicatie (1865) bevat er talrijke, evenals het onderzoek van *Ziegler* (1885), uit den aard van de zaak zijn zij echter onvolledig.

Ook *Poyarkoff* en *Mej. Schereschewsky* kunnen ons echter weinig zekerheid verschaffen. Hun beschrijvingen en meeningen zijn zóó volkomen met elkaar in strijd, dat het ten eenenmale onmogelijk schijnt deze met elkander in overeenstemming te

brengen. Zooals wij later zullen zien hebben zij zich echter beide vergist, doordat zij hun aandacht te veel op één feit geconcentreerd en daardoor de andere feiten over het hoofd gezien of verwaarloosd hebben.

Het is kenmerkend voor de wijze van werken in het laatst van de vorige eeuw, dat er talrijke onderzoekingen zijn over de embryologie van *Sphaerium*, terwijl de broedzakken zoo stiefmoederlijk zijn behandeld. Te veel, veel te veel is de aandacht gevestigd geweest op afstamming en verwantschap, terwijl men zich te weinig heeft bezig gehouden met de vraag, in hoeverre de ontwikkeling beïnvloed wordt door de levenswijze en de voeding van de embryo's. Het is toch duidelijk, dat het chronologisch optreden van de verschillende organen bij een embryo, dat vrij in het water leeft, anders moet zijn dan bij een, dat zich in een broedzak ontwikkelt. En dat dit verschil ook reeds in vroege stadia moet zijn te vinden. Of nu de „voorvader” van een dier pelagisch of benthonisch geleefd heeft, zal misschien wel van invloed zijn op de ontwikkeling, van veel meer invloed zal natuurlijk zijn, wat er bij die ontwikkeling moet ontstaan. Ik hoop op dit vraagstuk in een volgend artikel nog uitvoeriger terug te komen en wil nu de voornaamste onderzoekingen noemen, waarin men iets omtrent de broedzakken vermeld vindt. *Jacobson* (1828), *Carus* (1831) en *Leydig* (1855) gaven de eerste beschrijvingen ervan, die ons, gezien de techniek van dien tijd, slechts weinig belang kunnen inboezemen. *Stepanoff* (1865) echter geeft reeds talrijke interessante feiten, waarvan latere onderzoekers er verschillende over het hoofd hebben gezien. Ook bij *Ziegler* (1885) kan men een aantal bijzonderheden vinden, al is het deel van het onderzoek, waarin de broedzakken worden behandeld, zeer kort in verhouding tot het overige werk.

Stauffacher (1893), die het ontstaan van de eieren en de klieving bestudeerde, deelt niets mede over de zakjes, waarin deze klievingsstadia voorkomen. Ook de wijze, waarop de eieren in de kieuwen terecht komen, vermeldt hij niet. De beschrijving,

die *de Bruyne* (1898) van de broedzakken geeft, is voor een deel foutief; enkele waarnemingen, die op de voeding van de embryo's betrekking hebben, bezitten daarentegen wel eenige waarde. *Poyarkoff* (1910) en *Mej. Schereschewsky* (1911) heb ik hierboven reeds genoemd.

Over de ontwikkeling van de kieuwen is van de hand van *Wasserloos* (1911) een uitstekende publicatie verschenen, waarin ook de broedzakken heel kort worden besproken.

Hiermede is de literatuur over de broedzakken van *Sphaerium* uitgeput.

De *Sphaeriidae* (waartoe behalve *Sphaerium* ook nog *Pisidium* behoort), zijn niet de eenige Lamellibranchiaten, waarbij de ontwikkeling van de embryo's in de kieuwen van de volwassen dieren plaats vindt. Daar zijn in de eerste plaats de *Unionidae*; de eieren ontwikkelen zich bij deze dieren in de binnenste of de buitenste kieuwen tot de glochidia, die de kieuwen verlaten om zich als parasieten in de kieuwen van visschen verder te ontwikkelen. Ook bij *Lasaea* en *Pseudokellya* komt volgens *Pelseneer* (1906 p. 243 en 1911 p. 103) een dergelijke ontwikkeling voor. Het is kenmerkend, dat *Pelseneer* een tekening van de kieuwen met embryo's van *Lasaea* geeft, zonder er verder ook maar een korte beschrijving bij te geven (1906 fig. 222). De vraag, hoe de embryo's gevoed moeten worden, komt zelfs niet bij hem op. Uit deze figuur is niet te zien, of de embryo's los in de interlamellaire holte van de kieuw of in een zakje liggen. Is het eerste het geval, dan zijn de *Sphaeriidae* de eenige Lamellibranchiaten, die speciale zakjes vormen, waarin de embryo's zich ontwikkelen.

Bij *Ostraea edulis* en bij andere tweeslachtige soorten van het geslacht *Ostraea*, alsook bij *Entovalva* vertoeven de embryo's gedurende het begin van hun ontwikkeling in de mantelholte.

Zijn de broedzakken van *Sphaerium* nu een geheel nieuw onderzoek waard? Ik geloof van wel. Niet alleen om klaarheid

te brengen in de verwarde literatuur, ook niet alleen om de cytologische vraagstukken, die ermee in verband staan, maar vooral in verband met algemeen vergelijkend biologische vraagstukken. Wie in *Meisenheimer's* „Geschlecht und Geschlechter” de hoofdstukken over „Brutpflege” naleest en de erbij behorende literatuur bestudeert, zal bemerken, dat systematische onderzoekingen over deze „Brutpflege” bij verschillende Invertebraten zeldzaam zijn. De veranderingen, die de dieren ondergaan na het opnemen van de eieren, zijn vooral cytologisch meestal onvoldoende bekend. Ook het vraagstuk van de voeding van de embryo's is onvoldoende behandeld. Bij de verschillende dieren zijn de organen, waarin de ontwikkeling van de embryo's plaats heeft, zeer verschillend: een vergelijking van de veranderingen, die deze organen ondergaan tengevolge van dezelfde bijzondere omstandigheid — de aanwezigheid van de embryo's — en met hetzelfde doel — de voeding van de embryo's, moet dus zeer interessant zijn. Vóór de verschillende gevallen echter alle even nauwkeurig bekend zijn, kan men niet gaan vergelijken.

Dit onderzoek begon ik in het Zoölogisch Instituut te Leipzig, waar ik in 1922 een tijdlang onder leiding van *Prof. Joh. Meisenheimer* werkzaam mocht zijn. Aan hem dank ik ook het initiatief tot dit werk. Voor de mij in zijn laboratorium betoonde gastvrijheid, alsmede voor de voortdurende belangstelling, die hij mij niet alleen gedurende mijn verblijf te Leipzig, maar ook na mijn vertrek bewees, zeg ik hem hierbij hartelijk dank. Ook aan zijn assistenten, *Dr. Grimpe*, *Dr. Wagler* en *Dr. Michael* ben ik veel dank verschuldigd voor hun welwillend verleende hulp. Na mijn vertrek naar Utrecht, weldra gevolgd door mijn benoeming als leeraar, heb ik slechts bij tusschenpoozen aan dit onderzoek kunnen werken. Aan de bereidwilligheid waarmee de directeur van de R. H. B. S. te Breda, *Dr. L. de Jong*, mijn lesrooster zoo inrichtte, dat ik zooveel mogelijk in Utrecht kon zijn, heb ik het te danken, dat ik het technische gedeelte van het onderzoek kon voltooien en de bibliotheek kon raadplegen. Ook hem zeg ik hierbij hartelijk dank.

De teekeningen werden, op enkele uitzonderingen na, volgens mijn aanwijzingen vervaardigd door den Heer *J. Prijs*, teekenaar van het Zoölogisch Laboratorium te Utrecht, wien een woord van dank toekomt voor den ijver en de nauwgezetheid, waarmee hij zich van zijn taak heeft gekweten.

II. Materiaal en techniek.

De dieren, die ik onderzocht, behooren tot de soort *Sphaerium rivicola* Lm.

Alle mededeelingen in de literatuur over de broedzakken van de Sphaeriiden hebben betrekking op de soort *Sphaerium corneum* L., die veel kleiner en daardoor moeilijker te onderzoeken is. Aangezien ik een andere soort behandel, zal ik steeds de meeningen van verschillende onderzoekers over *Sphaerium corneum* vermelden zonder partij te kiezen, en daarnaast de door mij bij *Sphaerium rivicola* gevonden feiten meedeelen. Alleen in principieele kwesties, waarvan ik mag aannemen, dat zij voor beide soorten gelijk gelden, zal ik mijn meening tegenover die van anderen verdedigen. Later hoop ik *Sphaerium corneum* nog eens nauwkeuriger te onderzoeken en dan te vergelijken met *Sphaerium rivicola*.

Mijn materiaal was afkomstig uit de Pleisse bij Leipzig. Het werd dadelijk na aankomst in het laboratorium gefixeerd¹⁾, gewoonlijk met Zenker's vloeistof of met verzadigde waterige sublimaatoplossing + 3% ijsazijn. Beide oplossingen geven, vooral in warmen toestand, goede, sterke Flemming's vloeistof daarentegen minder bevredigende resultaten. Sommige dieren werden, na met jood-alcohol te zijn behandeld, eenigen tijd in alc. 96% gehard. Nadat de schaal verwijderd was, werden in salpeterzuren alcohol de schalen van de embryo's ontkalkt. Op deze wijze behandelde dieren werden in hun geheel gesneden en gebruikt voor het bestudeeren van de ligging van de geslachtsopening

¹⁾ *Stepanoff* vond in dieren, die eenigen tijd in aquaria werden gehouden, nooit jonge embryo's, terwijl het mij juist om deze te doen was.

en voor het verkrijgen van een overzicht over de ligging van de zakken enz. Ook den bouw van de groote zakken kon ik er goed in waarnemen. Van de overige dieren werden de binnenste kieuwen losgepraepareerd en onder het binoculair praepareermicroscop op hun inhoud onderzocht. Het gedeelte, waarin zich de kleinere broedzakjes bevonden, werd er uitgepraepareerd, in paraffine ingesmolten en gesneden. Een aantal kieuwen werden losgepraepareerd en met hun geheelen inhoud gesneden. De dikte van de doorsneden bedroeg gewoonlijk $7\frac{1}{2}$ μ , bij de series van geheele dieren 10 μ . Het opplakken van de doorsneden deed ik steeds met gedestilleerd water zonder eiwit-glycerine. Voor het kleuren gebruikte ik haematoxyline (Delafield) -eosine en ijzerhaematoxyline, soms gevolgd door eosine of pikrinezuur. Vooral het laatste leverde zeer goede praeparaten voor het bestudeeren van de structuur van het plasma van verschillende cellen. Eenige broedzakken van verschillenden leeftijd kleurde ik in hun geheel met borax-karmijn of met haematoxyline (Delafield) en maakte er totaal-paerparaten van, na uit de grootere zakken de embryo's te hebben verwijderd. Ik hoopte door deze praeparaten een beter inzicht in den bouw van den wand van de zakken te krijgen. Hoewel de wand op de meeste plaatsen slechts twee cellagen dik is, gelukte dit vrij slecht, aangezien de cellen, waaruit hij bestaat, voor een deel zeer groot zijn. De kernen van de wandcellen waren er echter zeer goed in waar te nemen, vooral in de met haematoxyline gekleurde zakken.

III. De bouw van de kieuwen van *Sphaerium*.

Alvorens ik met de bespreking van de broedzakken begin, wil ik eerst een en ander meedeelen over den bouw van de kieuwen, waarin deze zakken zich ontwikkelen. In de literatuur vindt men er slechts weinig over. De belangrijkste beschrijvingen zijn die van *Leydig* (1855 p. 58), *Stepanoff* (1865 p. 9), *Ziegler* (1885 p. 561) en *Janssens* (1893 p. 22). In het onderzoek van *Wasserloos* over de ontwikkeling van de kieuwen van *Sphaerium corneum* kan men ook een korte beschrijving vinden van de kieuwen van het volwassen dier (1911 p. 186).

Macroscopisch.

Links en rechts bevinden zich aan het lichaam twee kieuwplaten, die te vergelijken zijn met de binnenste en de buitenste kieuw van *Anodonta*. Fig. I, pl. I geeft een afbeelding van een foto van een mossel, waarop men den vorm en de ligging van de kieuwen kan waarnemen. De buitenste kieuw is lager dan de binnenste en bedekt deze slechts gedeeltelijk. Ook wat den vorm betreft, zijn de beide kieuwen verschillend. De lijn, waarlangs de kieuwen aan het lichaam zijn gehecht, is geen horizontale, maar loopt schuin over het lichaam, en wel ongeveer van het midden van de dorsale zijde schuin naar achteren, naar het tusschenschot, dat den uitstroomings- van den instroomingssipho scheidt. Bekijkt men de kieuwen met een loupe, dan ziet men, dat het oppervlak niet glad is, maar dat er een aantal fijne ribbeltjes overheen loopen, loodrecht op den vrijen rand van de kieuw. De afmeting in de richting van deze ribbels zal ik de hoogte van de kieuw noemen, die, loodrecht op de ribbels, de

lengte. Onder overlansche versta ik doorsneden, die het oppervlak van de kieuw en de ribbels loodrecht snijden; onder transversale zulke, die, evenwijdig met de ribbels, het oppervlak loodrecht treffen.

Beide kieuwen bestaan uit twee lamellen, die voor een deel met elkaar zijn verbonden. Deze lamellen kan men, evenals dit bij de andere mossels wordt gedaan, onderscheiden als binnenste en buitenste lamel. Deze nomenclatuur, die zuiver topographisch is, heeft veel bezwaren. Men moet dan spreken van de binnenste lamel van de binnenste kieuw, buitenste lamel van de buitenste kieuw e.d., hetgeen niet overzichtelijk is. Zij kan ook moeilijkheden opleveren, wanneer de binnenste en de buitenste lamel van een kieuw niet even hoog zijn, zoodat men doorsneden krijgen kan, waarop slechts één lamel voorkomt. Erger wordt het, wanneer men haar in afkortingen in figuren gaat toepassen, zooals *Wasserloos* dit doet, waardoor hij afkortingen krijgt als „isspk. äl. äk”, hetgeen beteekent, „Kuppen, in welchen die Intersegmentarspalten der äusseren Lamelle der äussern Kieme endigen.” Dergelijke afkortingen zouden overbodig zijn geworden, als *Wasserloos* in zijn schema's verschillende kleuren had toegepast, waardoor men direct zou kunnen zien, wat tot één kieuw behoort. Inplaats van de benamingen binnenste en buitenste lamel te gebruiken, zou men kunnen spreken van mediale en laterale lamel.

Er is echter nog een andere manier om de beide lamellen te onderscheiden. Deze gaat uit van het feit, dat van de kieuwen eerst één lamel ontstaat, die naar beneden groeit, dan ombuigt en zoo de tweede lamel gaat vormen. Men spreekt dan van afdalende lamel (voor de buitenste kieuw de binnenste lamel en voor de binnenste kieuw de buitenste lamel), en opstijgende lamel (bij de buitenste kieuw de buitenste en bij de binnenste kieuw de binnenste lamel). Deze benamingen zijn m. i. te verkiezen boven de eerste.

De afdalende en opstijgende lamellen van iedere kieuw zijn niet even hoog. De afdalende van de buitenste kieuw bereikt

slechts ongeveer $\frac{1}{4}$ van de hoogte van de opstijgende, en is er geheel mee verbonden. In het bovenste deel van de kieuw heeft men een holte, die dus begrensd wordt door de opstijgende

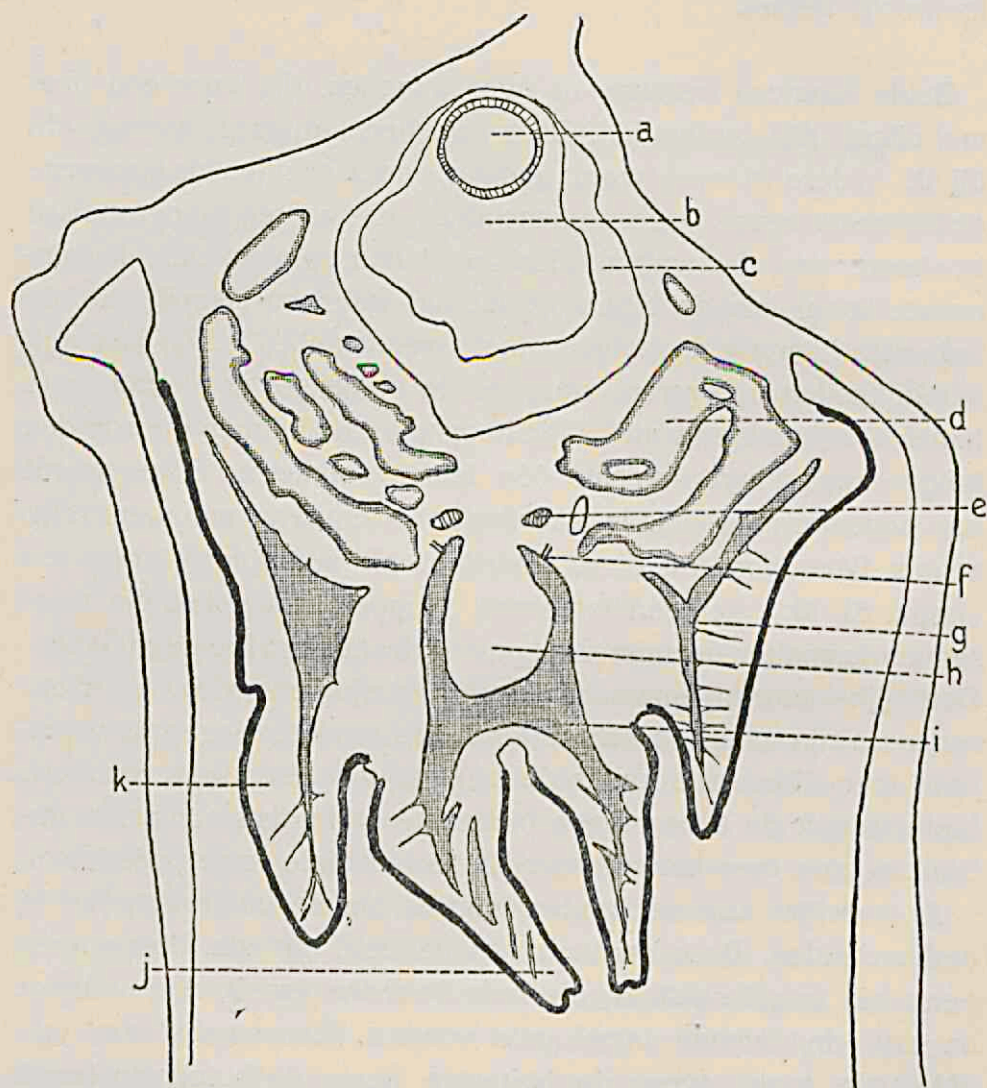


Fig. 1. Dwarse doorsnede door het achterste gedeelte van het lichaam van *Sphaerium rivicola* (halfschematisch). De doorsnede trof één van de beide geslachtsopeningen, de andere is in de figuur bijgeteekend.
 a = darm, b = hart, c = pericard, d = nier, e = cerebroviscerale connectief,
 f = uitmonding gonaden, g = holte buitenste kieuw, h = voet, i = gemeenschappelijke holte van de binnenste kieuwen, k = buitenste kieuwen,
 j = binnenste kieuwen.

lamel en den wand van het lichaam. De opstijgende lamel van de binnenste kieuw daarentegen is korter dan de afdalende, en bereikt in het voorste deel ongeveer $\frac{1}{4}$, in het achterste deel $\frac{1}{2}$ van de hoogte van deze. Alleen in het onderste deel zijn beide lamellen verbonden, zoodat wij in de kieuw een holte vinden, die in het onderste deel door de beide lamellen, in het bovenste deel door de afdalende lamel en den wand van het lichaam wordt begrensd (fig. 1).

Tengevolge van de verschillende hoogte van de lamellen liggen de plaatsen, waar zij aan het lichaam zijn vastgehecht, natuurlijk vrij ver van elkaar. Ook tusschen de plaatsen, waar de afdalende lamellen van beide kieuwen zijn vastgehecht, vindt men een kleine ruimte, waaruit blijkt, dat de beide kieuwen niet één geheel vormen, maar onafhankelijk zijn van elkaar, hetgeen ook bij hun ontstaan blijkt. De buitenste kieuw ontstaat namelijk pas, wanneer de binnenste kieuw reeds tamelijk ver ontwikkeld is.

Microscopisch.

Maakt men een doorsnede door het onderste gedeelte van de kieuw, dan krijgt men een aantal naast elkaar gelegen, langwerpige vakjes te zien, die, wanneer de kieuw op een gunstige plaats is getroffen, geheel vrij van elkaar zijn (fig. 2). Ieder van deze vakjes komt overeen met één van de ribbels, die men aan de oppervlakte van de kieuw kan waarnemen.

De afgeronde uiteinden van deze vakjes, die den vorm van kleine kapjes hebben en te samen het oppervlak van de kieuw vormen, bestaan uit hoge epitheelcellen, die voor een deel trilharen dragen; de aan elkaar grenzende wanden van de vakjes bestaan

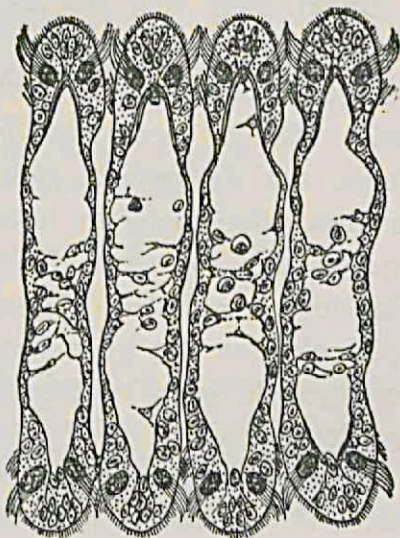


Fig. 2. Doorsnede door het onderste deel van de kieuw.

Vergr. 225 $\times$.

uit een dunne laag cellen, waarvan de kernen ver uiteen liggen.

Wanneer men dezen deelen namen gaat geven, komt men weer in moeilijkheden. Gewoonlijk noemt men de uit hooge epitheelcellen bestaande ribbels „filamenten”. Wanneer men dit echter doet, neemt men twee dingen aan, n.l. 1e dat deze ribbels homoloog zijn met de kieuwdraden of filamenten, waaruit de kieuw van de Filibranchiaten (bijv. *Mytilus*) bestaat, 2e dat de kieuw van de Eulamellibranchiaten uit die van de Filibranchiaten is ontstaan door vergroeiing van de losse filamenten. Het eerste is zeer waarschijnlijk, over het tweede kan men verschillende meeningen hebben.

Aan een filament van de kieuw van de Filibranchiaten kan men twee deelen onderscheiden, een buitenste deel, dat uit hooge epitheelcellen met lange trilharen, en een binnenste deel, dat uit cellen met korte trilharen bestaat.

Denkt men zich nu de kieuw van de Eulamellibranchiaten ontstaan uit die van de Filibranchiaten, doordat: 1e de naast elkaar gelegen filamenten, 2e het afdalende en het opstijgende deel van ieder filament met elkaar in verbinding treden, dan is het duidelijk, dat de geheele kieuw overeenkomt met twee rijen filamenten. Niet alleen de hooge epitheelcellen van een vakje behoren dus tot twee filamenten, maar ook de beide cellagen die deze verbinden. Eigenlijk mag men de kapjes van hooge epitheelcellen dus geen filamenten noemen, en het weefsel, dat ze verbindt, geen subfilamentair weefsel, zooals dit gewoonlijk wordt gedaan.

Wasserloos spreekt in zijn beschrijving van de kieuw van „segmenten”. „Jede der jederseitigen vier Lamellen zeigt auf ihrer Oberfläche einander parallellaufende Leisten, sogenannte Segmente. Je zwei einander entsprechende Segmente einer innern und einer äussern Lamelle sind durch Querbrücken, die interlamellären Brücken miteinander verbunden”. (1911 p. 186). Hieruit blijkt, dat *Wasserloos* de kleine kapjes segmenten noemt. Deze naam lijkt mij te verkiezen boven filament, zoodat ik hem dan

ook verder wil gebruiken. De benaming „filament” wil ik beperken tot de vrije draden, waaruit de kieuwen van de Filibranchiaten bestaan. *Wasserloos* is helaas niet consequent en gebruikt in de rest van zijn publicatie het woord filament voor verschillende dingen, n.l. zoowel voor de kapjes als voor de draden of buisjes, waarin de lamellen van de embryonale kieuwen worden verdeeld.

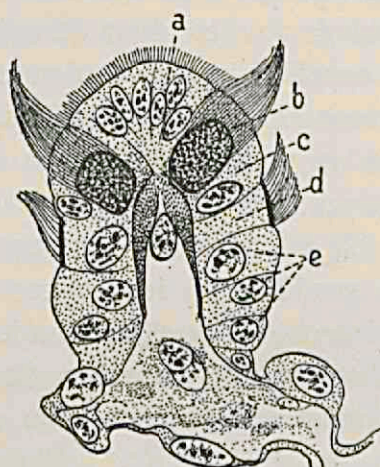


Fig. 3. Doorsnede door een segment van de kieuw van *Sphaerium rivicola*.

- | | | | |
|------------------|-----------|-------------------|----------|
| a = Höhenzellen | v. Posner | frontal cells | v. Peck. |
| b = Eckzellen | " | laterofrontale | " |
| c = Schaltzellen | " | } laterale cellen | " |
| d = Seitenzellen | " | | " |
| e = Grundzellen | " | | " |
- Vergr. 1000 $\times$.

Deze draden zullen zich later differentieëren in de segmenten en het subsegmentaire weefsel. In de verklaring der figuren schrijft *Wasserloos* echter: „subs. gew. subfilamentares (subsegmentares) Gewebe.” De ruimte tusschen twee vakjes moet men natuurlijk interfilamentaire ruimte noemen.

Bouw van de segmenten.

Aan de segmenten kan men verschillende soorten cellen onderscheiden (fig. 3). De buitenzijde van een segment bestaat uit een aantal cellen, die kleine trilharen dragen, welke dikwijls moeilijk

te zien zijn. Voetstukjes heb ik er niet in kunnen waarnemen. De kernen van deze cellen zijn rond, betrekkelijk klein, met weinig chromatine (fig. 3a).

Aan weerskanten grenzen aan deze cellen één of meerdere cellen met lange trilharen. Aan de basis van de trilharen kan men duidelijk de voetstukjes waarnemen, die in goede praeparaten bij vrij zwakke vergrooting reeds zichtbaar zijn. Het lijkt alsof deze voetstukjes met de kernen door draadjes zijn verbonden. Het plasma van deze cellen is dichter dan dat van de andere; de kernen zijn min of meer rechthoekig, groot, dicht gevuld met kleine korreltjes chromatine (fig. 3b). Bekijkt men een doorsnede, die de segmenten niet dwars, maar overlangs treft, dan zien de kernen er heel anders uit. Zij zijn weer $\pm$ rechthoekig met afgeronde hoeken, maar veel smaller. Bij iedere kern behooren in deze soort van doorsneden slechts twee cilia. Hieruit volgt dus, dat deze cellen twee rijen cilia bezitten. Tusschen deze en de volgende cellen vindt men meestal een klein celletje, dat er min of meer wigvormig tusschen geperst schijnt, welke indruk vooral versterkt wordt, doordat het vrije oppervlak eenigszins bol is en uitpuilt. Het protoplasma is licht gekleurd, de kern klein, rond, met weinig chromatine. Trilharen ontbreken (fig. 3c).

De volgende cellen dragen weer lange trilharen met duidelijke voetstukjes. De kern is groot, met weinig chromatine, het plasma donker. Aan deze cellen grenzen tenslotte die van het subsegmentaire weefsel. Hun kernen zijn groot, ovaal, met een aantal kleine stukjes chromatine en één duidelijken nucleolus (fig. 3d).

In principe komt de bouw van de segmenten bij *Sphaerium* overeen met dien bij andere Lamellibranchiaten. De beste histologische beschrijvingen bezitten wij van de kieuw van *Anodonta*, hoewel ook deze onderzoekingen oud en onvolledig zijn.

Posner (1877 p. 156) onderscheidde in de segmenten van *Anodonta* dezelfde soorten cellen, die ik hierboven voor *Sphaerium* heb beschreven: Höhenzellen, Eckzellen, Schaltzellen, Seitenzellen en Grundzellen. Daar ik met den bouw van de segmenten verder niets te maken heb, zal ik mij niet de moeite geven hollandsche

namen voor deze verschillende soorten van cellen te zoeken. *Peck* (1877 p. 63) onderscheidde frontale, laterofrontale en laterale cellen. De frontale cellen komen overeen met *Posner's* „Höhenzellen“, de laterofrontale met de „Eckzellen“, terwijl als laterale cellen de „Schaltzellen“, de „Seitenzellen“ en het subsegmentaire weefsel, waarvoor *Posner* geen aparten naam had, worden samengevat.

Ik bespreek deze kwestie iets uitvoeriger, omdat men in de literatuur deze namen door elkaar gebruikt vindt. *Pelseneer* bijv. (1906 fig. 210 p. 230) onderscheidt „frontal epithelium,“ „ciliated edge cells“ (die in den tekst „corner cells“ worden genoemd), en „lateral ciliated cells.“ Het zou aanbevelenswaardig zijn overal de nomenclatuur volgens *Posner* toe te passen, aangezien hij de eenige is, die alle componenten van de segmenten heeft benoemd.

In 1921 is een onderzoek verschenen van *F. Helvestine Jr.*, waarin de bouw van de filamenten wordt behandeld in verband met een geheel ander vraagstuk. De oorsprong van de voetstukjes van de cilia is namelijk niet zeker bekend. Volgens de theorie van *Henneguy* en *v. Lenhossék* zijn de voetstukjes homoloog met het centrosoma, waaruit zij ontstaan. Een consequentie daarvan is dat cellen, die in het bezit zijn van cilia met voetstukjes, geen centrosoma meer kunnen hebben. En wanneer men het centrosoma als het kinetisch centrum bij de kerndeeling beschouwt, moet men aannemen, dat dergelijke cellen zich niet meer mitotisch kunnen deelen.

Helvestine heeft hiervoor bewijzen gezocht en meende deze gevonden te hebben in de structuur van de segmenten van *Cyclas* (*Sphaerium*). De soort, die hij bestudeerde, vermeldt hij helaas niet. Het resultaat, waartoe hij gekomen is, is het volgende. Hij onderscheidt (min of meer in navolging van *Peck*) frontaal, laterofrontaal, lateraal en basaal epitheel. Onder laterale cellen verstaat hij *Posner's* „Seitenzellen“. De „Schaltzellen“ vermeldt hij niet als een afzonderlijke soort. Toch heeft hij deze wel waargenomen: „between these cells (d.z. de laterale cellen J. G.) and the latero-frontal epithelium several non-ciliated cells may or may not be

interposed" (p. 103). De beschrijving, die *Helvestine* van deze cellen geeft, komt ongeveer overeen met die, welke ik hierboven ervan heb gegeven. Van belang is echter, wat hij over het ontstaan ervan schrijft. De frontale cellen zouden namelijk langzamerhand verslijten en degenereeren. Zij worden vervangen door laterofrontale cellen, waarvan de cilia gedeeltelijk zijn afgesleten, doordat zij aan het vrije oppervlak van de segmenten zijn blootgesteld aan beschadiging door allerlei harde en scherpe deeltjes. Daar de kernen van frontale en laterofrontale cellen zeer verschillend zijn, moet *Helvestine* wel aannemen, dat de kernen bij dezen overgang veranderen. De kernen van frontale cellen die aan laterofrontale grenzen, vertoonen volgens hem dezen overgang. De kernen van de laterofrontale cellen kunnen zich amitotisch deelen. Zij ontstaan uit laterale cellen, die naar voren zijn geschoven. Daar ook de kernen van de laterale en de laterofrontale cellen zeer verschillend zijn, moet *Helvestine* weer aannemen, dat deze kernen een verandering ondergaan; zij worden nl. hyperchromatisch. Nadat op deze wijze een laterale cel tot een laterofrontale is geworden, gaat de kern zich direct deelen en wel eenige keeren na elkaar. Tegelijkertijd rangschikken de voetstukjes met de cilia zich in groepjes van twee. Zoo ontstaat een geheel nieuw type van cel, met twee voetstukjes en twee cilia, en een smalle, min of meer vierhoekige kern. Daar deze cellen echter ook op doorsneden, longitudinaal door de segmenten, twee voetstukjes met twee cilia vertoonen, bezitten zij in totaal vier cilia met voetstukjes. De basale cellen eindelijk, waaruit dus de drie andere soorten cellen kunnen ontstaan, kunnen zich mitotisch deelen.

Ik geloof niets van deze theorie.

1e. Overgangen tusschen de verschillende soorten cellen heb ik nooit kunnen vinden. Zoowel op dwarse als op overlangsche doorsneden door de segmenten heb ik de verschillende soorten cellen steeds kunnen onderscheiden.

2e. Het lijkt mij onwaarschijnlijk, dat de cilia van de laterofrontale cellen zouden afslijten. Wanneer men de figuren van

Helvestine bekijkt, krijgt men dien indruk heelemaal niet, integendeel, er is een groot onderscheid tusschen de cilia van de frontale en die van de laterofrontale cellen. Het lijkt echter soms, of er wel een overgang is; de cilia van de laterofrontale cellen liggen dan niet alle evenwijdig, maar de voorste liggen gedeeltelijk over de achterste heen, zoodat het, vooral bij zwakke vergrooting, lijkt alsof de voorste korter zijn (fig. 3).

3e. Indirecte deelingen heb ik nooit waargenomen. Het komt mij voor, dat *Helvestine* zich vergist heeft. Wanneer men zijn fig. 1 bekijkt, dan ziet men een segment waarvan de bouw geheel overeenkomt met de beschrijving, die ik ervan heb gegeven (alleen de kernstructuren zijn iets verschillend). Ook fig. 4 lijkt er veel op; alleen ontbreken hier de „Schaltzellen”. Fig. 6 daarentegen toont een heel anderen bouw. Inplaats van de één of twee laterofrontale en laterale cellen, zooals in fig. 1 en fig. 2, vindt men er hier vele; de rij voetstukjes is verdeeld in groepen van twee, waarvan elke groep overeenkomt met één kern. Het ligt min of meer voor de hand te veronderstellen, dat *Helvestine* in dit geval een doorsnede heeft geteekend, die het segment schuin heeft getroffen, waardoor hij een aantal kernen en de daarbij behorende rijen van cilia heeft getroffen. (Zooals ik op blz. 14 reeds meedeelde, zijn de kernen op overlansche doorsneden veel smaller en krijgt men hier slechts twee cilia te zien).

Deze verklaring lijkt mij meer waarschijnlijk dan die van *Helvestine*.

4e. *Helvestine* heeft de laag „Schaltzellen”, die zich tusschen de laterale en de laterofrontale cellen bevinden, verwaarloosd. Dergelijke cellen zonder cilia kunnen voorkomen, maar zij kunnen volgens hem ook ontbreken. Ik vond ze echter geregeld. Zij staan natuurlijk de vorming van laterofrontale uit laterale cellen in den weg: deze zouden er òf doorheen moeten dringen, òf zich eerst in „Schaltzellen” en pas daarna in laterofrontale cellen moeten veranderen, d.w.z. eerst hun ciliën moeten verliezen en daarna weer nieuwe krijgen.

Ik geloof, dat ik hiermee voldoende heb aangetoond, dat de feiten, die *Helvestine* meent te hebben waargenomen, van zeer twijfelachtigen aard zijn. Wanneer de segmenten eenmaal gevormd zijn, blijven zij onveranderd, groeien ook niet, d.w.z. worden alleen langer. De groei van de kieuw heeft plaats door vorming van nieuwe filamenten aan de achterzijde en door het aangroeien van de filamenten aan den ondersten vrijen rand van de kieuw. Wel schijnen soms de „Höhenzellen” te degenereren, ik heb er echter ook wel mitosen in aangetroffen, waardoor de vorming van nieuwe cellen mogelijk is.

Na deze uitweiding over de cellen van het segment wil ik tot den eigenlijken bouw ervan terugkeeren.

Onder de cellen van het segment vindt men een structuurlooze laag, die op doorsnede ongeveer den vorm van een omgekeerde V heeft: het chitineskelet. Wij vinden hier dus niet, zooals bij *Anodonta*, twee staafjes, maar slechts één, dat den geheelen binnenkant van het segment bekleedt. Volgens *Wasserloos* worden zij echter als twee staafjes aangelegd, die later gaan versmelten. Zij ontstaan uit mesenchymcellen en niet uit de epitheelcellen, die eraan grenzen. Dikwijls vindt men in den hoek, waar de beide helften bij elkaar komen, een klein celletje, dat soms gedeeltelijk in de skeletsubstantie ligt.

Wanneer men een aantal doorsneden door een kieuw bekijkt, kan men soms een geheel ander beeld te zien krijgen (fig. 4). De vakjes zijn niet meer vrij, maar zijn gedeeltelijk met elkaar vergroeid. Alleen in het midden zijn de afzonderlijke vakjes nog waar te nemen. De segmenten zijn direct met elkaar verbonden door de intersegmentaire verbindingen; het subsegmentaire weefsel, dat aan de segmenten aansloot, is verdwenen. Wij krijgen dus onder het oppervlak van de kieuw twee doorlopende ruimten, één lateraal en één mediaal, die in het midden door een aantal vakjes met elkaar zijn verbonden.

In doorsneden, die dit beeld vertoonen, neemt men gewoonlijk nog een andere bijzonderheid waar. De segmenten zijn na-

melijk niet alleen door vergroeiing van hun epithelien met elkaar verbonden: over de geheele lengte van de kieuw loopt onder de segmenten een strook, die uit dezelfde structuurlooze substantie bestaat als het skelet van de segmenten, waarmee zij ook in verbinding staat, zoodat de skeletten van de segmenten tot één geheel zijn vereenigd. Door deze strooken, die op regelmatige

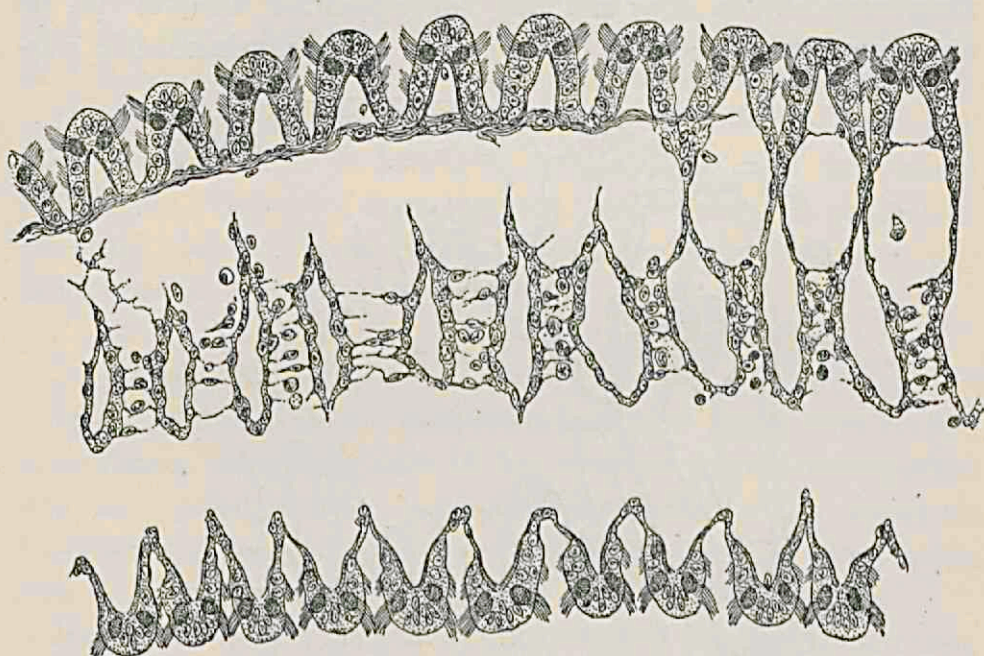


Fig. 4. Overlangsche doorsnede door het onderste gedeelte van de kieuw. Deze doorsnede treft de kieuw iets hoger dan de in fig. 2 afgebeelde.

afstanden voorkomen, verkrijgt de kieuw natuurlijk meer stevigheid. In de strooken, die hier en daar duidelijk overlangs gestreept zijn, zijn op verschillende plaatsen cellen ingesloten, waarschijnlijk de mesenchymcellen, waaruit zij zijn ontstaan (fig. 4).

Bij het bestudeeren van een volledige serie van overlangsche doorsneden door het onderste gedeelte van de kieuw, blijkt, dat een aantal doorsneden van de eerste soort (vrije vakjes) telkens afwisselen met een aantal van de tweede soort (versmolten vakjes). Daaruit volgt dus, dat de kieuw is opgebouwd uit een aantal naast elkaar gelegen vakjes, die door twee rijen longitudinale kanalen (lateraal en mediaal) zijn verbonden.

De kieuwholte.

Op een bepaalden afstand van den onderrand van de kieuw beginnen de doorsneden een eenigszins ander aanzien te krijgen. De vakjes worden meer langgerekt, en sommige beginnen zich in twee deelen, één lateraal en één mediaal, te splitsen. De interlamellaire verbindingen houden hier dus op. De holten in de filamenten blijven door een laag subsegmentair weefsel van de buitenwereld gescheiden (fig. 5). Niet alle interlamellaire ver-

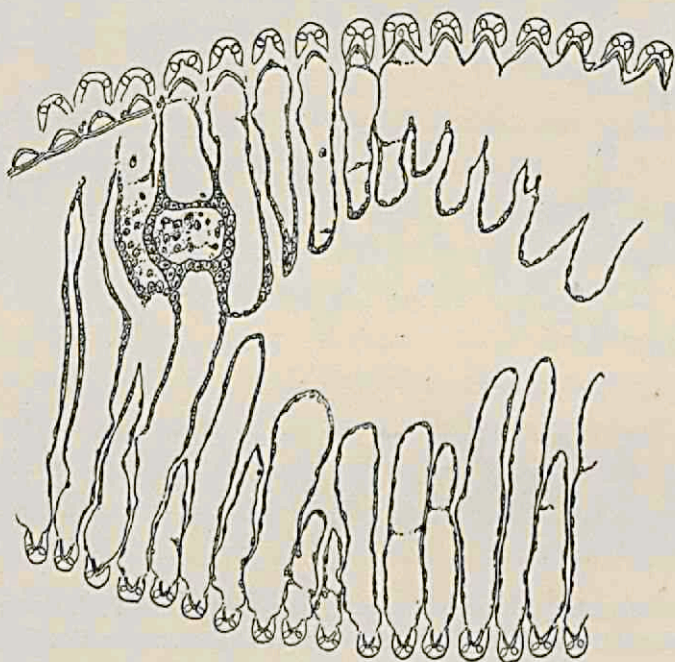


Fig. 5. Doorsnede door het onderste gedeelte van de kieuwholte.

bindingen houden op dezelfde hoogte op. *Ziegler* (1885 p. 561) geeft een zekere regelmaat aan: „die Septen endigen nicht auf gleicher Höhe, sondern je die dritte oder vierte geht ein wenig höher als die anderen.” Ik heb een dergelijke regelmaat niet waargenomen. Wanneer alle interlamellaire verbindingen op deze wijze hebben opgehouden, bestaat de kieuw dus uit twee lamellen, die geheel van elkander zijn gescheiden. Tusschen beide bevindt zich een holte, de kieuwholte. Eigenlijk is deze naam niet juist; onder kieuwholte verstaat men gewoonlijk de holte, waarin de

kieuwen zijn gelegen. Deze is bij de Mollusken echter de mantelholte, zoodat vergissing niet mogelijk is. Bij de meeste andere Lamellibranchiaten bevindt zich alleen boven in de kieuw een holte, de suprabranchiale holte, die met den uitstroomingssipho, wanneer deze aanwezig is, in verbinding staat. Daar kan men echter hier niet van spreken, aangezien deze „suprabranchiale” holte het grootste deel van de kieuw inneemt. Wel zou de kieuwholte hier met den naam „intrabranchiale holte” kunnen worden aangeduid. Ik wil hier eenvoudigheidshalve toch van kieuwholte spreken.

De holten in de aan elkaar grenzende filamenten gaan ook in dit gedeelte van de kieuw in groepjes van 3—4 met elkaar versmelten. Tusschen deze groepen van versmolten segmenten bevinden zich weer openingen, waardoor de kieuwholte in verbinding staat met de buitenwereld.

De bloedcellen.

In de holten van de filamenten kan men steeds bloedcellen waarnemen. Aangezien deze bij het ontstaan van de broedzakken een rol spelen, zal ik er een korte beschrijving van geven en tegelijkertijd eenige algemeene vragen, die met de bloedcellen van de Lamellibranchiaten verband houden, bespreken.

Naar den vorm kan men verschillende soorten bloedcellen onderscheiden, waarvan de voornaamste zijn:

1e. 9—11 μ . groote cellen met betrekkelijk kleine, ovale of ronde (misschien van opzij geziene) kernen. De ovale kernen zijn ongeveer 7 μ . lang en 3,5 μ . breed, de ronde hebben 3,5 μ . middellijn. Zij bevatten weinige, maar groote chromatinekorrels, die in het midden dicht bij elkaar liggen, en zijn omgeven door een dikke kernmembraan¹⁾. Op sommige teekeningen en microphoto's zijn deze kernen duidelijk zichtbaar. In de praeparaten vallen deze bloedcellen door de donkere kleur van hun kernen direct op (fig 6a en b).

2e. 9—11 μ . groote cellen met tamelijk groote, ovaal tot ronde

¹⁾ Of dit werkelijk een kernmembaan, of dat optisch bedrog in het spel is, laat ik in het midden.

kernen van 8—6 μ . De kernen zijn gevuld met een aantal kleine chromatinekorreltjes, die er regelmatig in verspreid liggen. De kernmembraan is tamelijk dun. Deze cellen zijn dan ook niet zoo sterk in het oog vallend als die van de vorige soort (fig. *c en d*).

Zoowel de kernen van de bloedcellen van de eerste als die van de tweede soort kunnen ingesnoerd of in twee lobben ver-

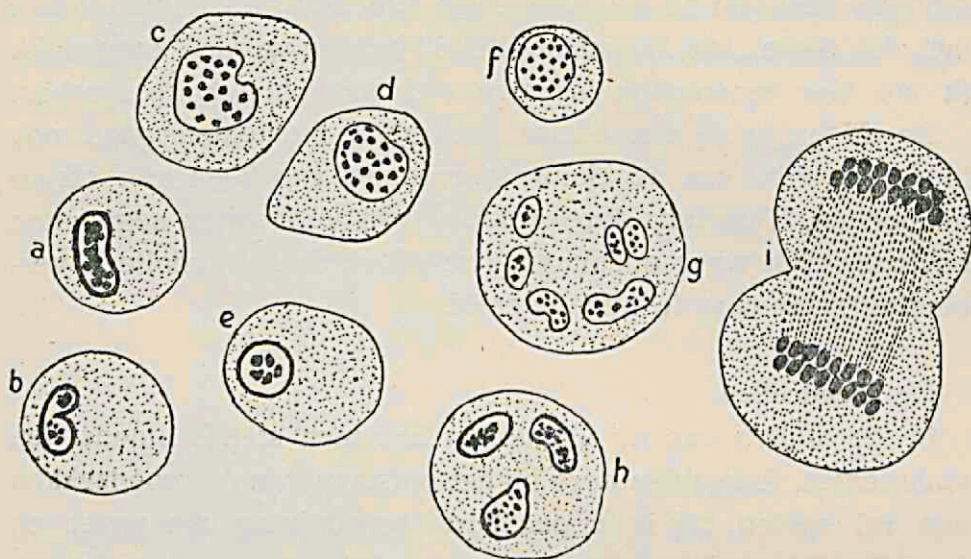


Fig. 6a—h. Verschillende soorten van bloedcellen. i. Indirecte deeling van een bloedcel.

deeld zijn. Een enkele keer bezaten de cellen van de eerste soort ook meerdere kernen (fig. 6 *b en h*).

3e. Cellen, die kleiner zijn dan de beide voorafgaande soorten. De kern lijkt veel op die van de vorige soort, is alleen iets kleiner; de cel bevat echter slechts zeer weinig protoplasma, dat als een dun laagje de kern omgeeft (fig. 6 *f*).

In mijn met haematoxyline-eosine en ijzerhaematoxyline gekleurde praeparaten heb ik in het protoplasma van de bloedcellen geen insluitsels kunnen waarnemen. Het was steeds fijn, homogeen granulair, iets lichter gekleurd dan dat van andere cellen.

Voor zoover ik weet, zijn de bloedcellen van *Sphaerium* nooit uitvoerig beschreven. Over de bloedcellen van andere *Lamellibranchiaten* daarentegen zijn veel onderzoeken gepubli-

ceerd¹⁾. Uit deze blijkt, dat ook daar verschillende soorten bloedcellen voorkomen. *de Bruyne* (1896 p. 177) bijv. beschrijft niet minder dan zeven soorten, in de eerste plaats gekenmerkt door het al of niet aanwezig zijn van insluitsels, en pas in de tweede plaats door den vorm van de kernen. Volgens *de Bruyne* zijn al deze soorten verschillende stadia van slechts één soort en kunnen zij dus uit elkaar ontstaan. Dat is niet te verwonderen; het is duidelijk, dat in het plasma insluitsels kunnen ontstaan, groeien en verdwijnen.

Kollmann (1908 p. 62) nam aan, dat de kleine cellen met de groote kernen de jongste zijn. Naarmate zij ouder worden, zou de hoeveelheid protoplasma toenemen, terwijl de kern niet veel verandert. Daarna zou de kern van vorm gaan veranderen, zich gaan insnoeren of zich zelfs in twee deelen gaan verdeelen. Of het zou ook kunnen gebeuren, dat in het plasma langzamerhand steeds meer granula gaan verschijnen²⁾.

Of dit werkelijk zoo is, heb ik niet kunnen controleeren. Het is m.i. zeer goed denkbaar, dat de verschillende soorten bloedcellen verschillende physiologische beteekenis hebben, bijv. als vormers van enzymen, als phagocyten e.d.

De bloedcellen hebben één eigenschap, die later voor ons van belang zal blijken te zijn. Wanneer men het subsegmentaire weefsel nauwkeurig onderzoekt, treft men regelmatig cellen aan, die totaal verschillend zijn van de cellen van het weefsel, waarin zij zijn gelegen. Niet alleen doordat hun kern verschilt van die van de gewone cellen, ook het protoplasma ziet er heel anders

1) Een kort overzicht van de literatuur vindt men in Winterstein's Handbuch Bd. I, erste Hälfte Blz. 656.

2) In Winterstein's Handbuch is het werk van *Kollmann*, wat dit punt betreft, niet geheel juist gerefereerd. „In dem Masse als die Zelle älter wird, nimmt das Protoplasma zu, belädt sich mit Granula und dann deformiert sich der Kern oder er fragmentiert sogar.” (l.c. p. 656). *Kollmann* merkt echter uitdrukkelijk op: „Il est à remarquer que la fragmentation nucléaire est un phénomène tout à fait indépendant de la formation des granulations. En effect, il existe des cellules granuleuses à noyau simple et sphérique et des cellules hyalines à double noyau.” (l.c. p. 62).

uit. Bij nauwkeurig vergelijken blijkt, zooals ik in een volgend hoofdstuk uitvoeriger zal aantonen, dat deze cellen bloedcellen zijn, die tusschen de cellen van het subsegmentaire weefsel zijn ingedrongen. Een enkele maal vond ik ze ook tusschen de cellen van de segmenten. Wat doen die bloedcellen daar?

De Bruyne (1896 p. 161) heeft hetzelfde bij verschillende mossels waargenomen. Hij beschouwde dergelijke bloedcellen als phagocyten, die overal in het lichaam afvalproducten van de stofwisseling opnemen en ze door het lichaamsepitheel, en wel voornamelijk dat van de kieuwen, buiten het lichaam brengen. Soms houden zij zich langeren tijd in het epitheel op en vernielen dit gedeeltelijk, zoodat groote holten ontstaan, waarin meerdere bloedcellen liggen.

Het plasma van de phagocyten, zooals *de Bruyne* deze heeft waargenomen, was dicht gevuld met verschillende soorten granula. Dit was echter niet het geval bij de bloedcellen, welke ik in het subsegmentaire weefsel aantrof. Ook was hier niets van een vernielende werking van de bloedcellen te bespeuren. Hieruit meen ik te mogen besluiten, dat deze bloedcellen bij *Sphaerium* geen excretorische functie bezitten. Waarmee ik nog niet wil zeggen, dat er geen bloedcellen met excretorische functie voorkomen.

Een nog niet geheel opgelost vraagstuk is, hoe de bloedcellen bij de Lamellibranchiaten ontstaan. Algemeen wordt aangenomen, dat zij door deeling uit andere bloedcellen ontstaan. Dit zou op twee manieren kunnen gebeuren, of door mitose, of amitotisch. Volgens *Quagliariello* (*Winterstein's Handbuch* Bd. I. 1 p. 656) nemen *Cattaneo*, *Griesbach*, *Knoll* en *Owsjannikow* aan, dat uitsluitend de eerste manier van deeling voorkomt, terwijl *Kollmann* de tegenovergestelde meening is toegedaan.

Ik wil hierbij opmerken, dat ik meermalen mitosen van bloedcellen heb gezien (fig. 6i), terwijl ik nooit een direkte deeling aantrof. Wel zag ik dikwijls bloedcellen met gelobde of diep ingesnoerde kernen; deze komen zelfs algemeen voor; ook bloedcellen met twee, soms zelfs drie kernen nam ik waar; een insnoering van de bloedcellen zelf heb ik nooit te zien gekregen.

IV. De broedzakken.

Zooals ik in de inleiding reeds opmerkte, zijn de Sphaeriiden de eenige Lamellibranchiaten, waarbij de eieren zich in de kieuwen in gesloten zakjes ontwikkelen. Het zijn steeds de binnenste kieuwen, waarin deze ontwikkeling plaats heeft, niet de buitenste, zooals *Pelseneer* (1906 p. 267) aangeeft.

Bij de Unionidae ontwikkelen de eieren zich ook wel in de kieuwen, zij liggen hier echter niet in gesloten zakjes, maar in de interlamellaire holten, die door interlamellaire verbindingen in een aantal ruimten worden verdeeld (zie *Lefevre* en *Curtis* 1910 pl. XIII). Deze ruimten staan door de openingen tusschen de segmenten in open verbinding met de buitenwereld. Alleen bij de Anodontinae vond *Ortmann* (1911 p. 324—325, zie *Lefevre* en *Curtis* 1920 p. 129), dat een deel van de interlamellaire ruimten door plooien van de interlamellaire verbindingen kan worden afgesloten. Op deze wijze ontstaan ook gesloten zakken, die dus buiten den waterstroom door de kieuw staan.

Bij *Sphaerium* is de toestand een geheel andere. De embryo's liggen in de kieuwholte in zakjes, die slechts op één plaats met het subsegmentaire weefsel zijn verbonden; de zakjes worden dus aan alle zijden omspoeld door den waterstroom, die door de openingen tusschen de segmenten binnenkomt en door de kieuwholte en den uitstroomingssipho de kieuw weer verlaat. Dit verschil tusschen de broedruimten van de Unionidae en die van de Sphaeriidae hangt samen met het feit, dat de embryo's van *Sphaerium* zich in de kieuwen veel verder ontwikkelen dan die van de Unionidae. Bij de laatsten ontwikkelen zij zich slechts tot glochidia. Wel is het aantal embryo's in verhouding

grooter dan bij *Sphaerium*, de toename in grootte is echter niet zoo sterk, zoodat de interlamellaire holten voldoende kunnen uitrekken. In de kieuw van *Sphaerium rivicola* bevinden zich slechts weinig embryo's, die zich echter tot mosseltjes van 5 mm ontwikkelen, terwijl het ei slechts 0,05 mm doorsnede heeft. In het begin van hun ontwikkeling liggen deze embryo's tusschen de interlamellaire verbindingen, zooals bij de *Unionidae*; weldra is daar echter niet voldoende ruimte meer voor hun verdere ontwikkeling; het weefsel van de interlamellaire verbindingen groeit, met het embryo, uit in de kieuwholte, die gemakkelijk kan uitzetten, daar de interlamellaire verbindingen ontbreken.

Aantal zakken en embryo's.

In beide binnenste kieuwen vindt men gewoonlijk meerdere zakjes. Over het aantal, dat bij *Sphaerium rivicola* Lm. voorkomt, kan men in de literatuur geen opgaven vinden, daar de broedzakken van deze soort nog niet beschreven zijn. Voor *Sphaerium corneum* L. staan meer gegevens ter beschikking, die echter sterk uiteenloopen.

Ik wil een kort overzicht over deze opgaven geven om te laten zien hoe weinig zekerheid men uit de literatuur kan verkrijgen. Tevens worden in dit overzicht de publicaties, die op de broedzakken van *Sphaerium corneum* L. betrekking hebben, genoemd.

De oudste mededeeling over de broedzakken van *Sphaerium corneum* L. schijnt die van *Jacobson* te zijn (1823 p. 303). Hij vond in de holte van de binnenste kieuw meestal een groot embryo, eenige kleinere en een paar zakjes of kapsels, die met de eierstokken samenhangen en ieder één ei of embryo bevatten. Wat betreft het ontstaan van deze zakjes, had hij een zeer merkwaardige opvatting. Hij nam waar, dat de eierstok uit een aantal opeengedrongen zakjes bestond. Na de bevruchting zouden deze zakjes gaan uitgroeien, en door deze toename in grootte zouden zij uit het lichaam in de kieuwholte worden gedrongen,

(hoè kan *Jacobson* niet verklaren; hij neemt aan door barsten van de huid of door een eigen kanaal). Voorloopig blijven de eieren in deze zakjes, die dus eigenlijk deelen van den eierstok zijn, en ontwikkelen zich hier tot jonge dieren. Tot zij een bepaalde grootte bereiken hebben en de wand van den zak barst, zoodat de embryo's in de kieuwholte terecht komen, waar zij hun verdere ontwikkeling doormaken om tenslotte als kleine mosseltjes de kieuw te verlaten. Hierbij reproduceer ik een figuur van *Jacobson* (1828 Taf. III f. IX), waarop

de min of meer peervormige zakjes duidelijk te zien zijn. (fig. 7). De verklaring bij deze figuur luidt (1828 p. 323): „Door snede door een dier om het verwijde kieuwkanaal of den kieuwzak te laten zien. a. mantel b. de buitenste kieuw met het kleine kieuwkanaal c. ., d. de binnenste kieuw met het verwijde kieuwkanaal, e. het buitenste vlies, f. het binnenste vlies ervan. Tusschen beide is het verwijde kieuwkanaal of de kieuwzak gelegen.

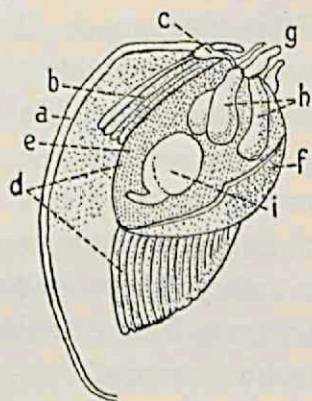


Fig. 7. Verklaring in den tekst, (naar *Jacobson* 1828 Taf. III f. IX).

Daarin ziet men h. de peervormige verlengsels, die van den eierstok g. komen... i. uitgebroed jong."

Carus heeft in zijn „Erläuterungstafeln zur vergleichenden Anatomie" (1831 Heft III Taf. 2.) de figuren van *Jacobson* overgenomen. Evenwel zonder veel tekst, zoodat het moeilijk is deze figuren te begrijpen, als men die van *Jacobson* er niet bij heeft. Eigenlijk heeft *Carus* alleen de verklaring van de figuur van *Jacobson* overgenomen. Bij de figuur, die ik hierbij heb afgebeeld, staat: „Durchschnitt der Kiemen, um die Lage der Embryonen im Kanal über der innern Kieme zu zeigen, in welchen sie aus dem Eierstocke hineintreten."

Leydig en *Stepanoff* hebben deze figuur van *Jacobson* — *Carus* gekend en er critiek op uitgeoefend.

Leydig (1855 p. 60) schrijft: „Wie vielleicht zuerst *Jacobson* (siehe bei *Carus* Erl. taf. z. vergl. Anat. Heft. III) abgebildet hat,

entwickeln sich die Embryonen van *Cyclas* in eigenen Taschen, die in die Kiemen hineinragen. Es werden in dieser Beziehung die äusseren Kiemenblätter genannt, ich finde aber ohne Ausnahme die Säcke mit Embryonen im innren Kiemenpaar;". Noch bij *Jacobson*, noch bij *Carus* vindt men dit echter vermeld; volgens beide ontwikkelen de embryo's zich in de binnenste kieuw.

Stepanoff (1865 p. 11) is het op een ander punt niet met *Carus* eens. „In den Erl. taf. z. vergl. Anat. van *Carus* ist irrthümlicher Weise der ganze obere Theil der inneren Kiemenkammer, der durch die ausgebildeten Säcke stark erweitert wird, als eine einzige Bruttasche abgebildet." Dit is niet geheel juist; er kan in de figuur van *Carus* geen sprake zijn van een broedzak; hij gebruikt deze uitdrukking ook nergens. Maar *Carus* heeft niet ingezien, dat de peervormige verdikkingen eigenlijk broedzakjes zijn, waarin de embryo's zich gedeeltelijk ontwikkelen. Hij noemt ze: „birnförmigen, Eier enthaltenden Verlängerungen, welche vom Eierstocke kommen."

Later is noch de figuur, noch de publicatie van *Jacobson* ergens in de literatuur vermeld. Toch is het de eenige figuur, welk wij van de broedzakken in situ bezitten. De manier waarop *Jacobson* zich het ontstaan van de broedzakken voorstelde, is, zooals wij later zullen zien, absoluut verkeerd. Wat betreft het aantal, deelt *Leydig* mede, dat hij gewoonlijk 3 zakjes, ieder met meerdere, soms zelfs 5 tot 6, embryo's vond. *Stepanoff* daarentegen nam een veel grooter aantal zakjes waar, soms wel 10, van verschillende ouderdom. De jongste zakjes bevatten gewoonlijk slechts 1 of 2, de oudere tot 7 embryo's. Wanneer in kleine zakjes meerdere embryo's voorkwamen, bevonden zij zich steeds alle in hetzelfde stadium van ontwikkeling, in oudere zakken bijna altijd in verschillende stadia. Dit feit probeerde *Stepanoff* te verklaren door aan te nemen, dat de aan elkaar grenzende zakken met elkaar gaan vergroeien. *Ziegler* (1885 p. 525) noemde geen getallen. In iedere kieuw vond hij een reeks zakjes, ieder met eenige embryo's van ongeveer gelijken ouderdom. De voorste zakjes bevatten de oudste, de achterste de jongste embryo's. *Poyarkoff*

(1910) spreekt niet over het aantal broedzakken. *Wasserloos* (1911 p. 257) bevestigt de opgaven van *Ziegler*. Ook een versmelten van de zakken acht hij niet onmogelijk. *Mej. Schereschewsky* (1911 p. 679) tenslotte komt met geheel andere getallen, die overeenkomen met die van *Leydig*. Zij nam nooit meer dan 3 zakken waar, ieder met 6—7 embryo's van verschillende grootte. De voorste zak bevatte de oudste, de achterste de jongste embryo's.

Zooals men ziet is er niet veel overeenstemming tusschen deze verschillende opgaven. Ik zal nu eerst mededeelen, wat ik bij *Sphaerium rivicola* heb waargenomen, om dan te probeeren een verklaring te geven voor de uiteenlopende getallen voor *Sphaerium corneum*.

In iedere kieuw trof ik meestal meerdere zakken met meestal 1 of 2, zelden 3 of 4 embryo's aan. Meer dan 4 embryo's in één zak heb ik nooit waargenomen. Behalve deze zakken komen in groote dieren meestal ook enkele, 1 of 2, losse mosseltjes voor, die uit den broedzak zijn vrijgekomen en nu los in de kieuwholte liggen. Zij zijn gewoonlijk vrij groot, 4 à 5 mm; een enkele keer nam ik in de kieuw ook een mosseltje van 6 mm waar. Dergelijke dieren zijn in hoofdzaak gebouwd als de volwassen dieren, in de geslachtsorganen bevinden zich ook reeds spermatozoïden en eieren.

Om nu niet te generaliseeren heb ik in onderstaande tabel den inhoud opgegeven van de beide kieuwen van 35 exemplaren van *Sphaerium rivicola*, gevangen in de Pleisse bij Leipzig in November 1923. In de tweede, derde en vierde kolom vindt men de lengte, hoogte en dikte van de dieren in mm vermeld. In de volgende 6 kolommen vindt men boven het aantal embryo's, dat zich in de linker kieuw bevond, onder het aantal in de rechter kieuw. Dan komt het totaal aantal embryo's in de linker en rechter kieuw. In de volgende 4 kolommen vindt men het aantal zakken met 1, 2, 3 of 4 embryo's en het totaal aantal zakken, voor beide kieuwen. De dieren zijn gerangschikt naar hun grootte. L geeft aan, dat het embryo los in de kieuwholte lag.

TABEL I.

Nr.	Lengte	Hoogte	Dikte	Aantal embryo's (lengte in mm.)							Aantal zakken				
				6--5	5--4	4--3	3--2	2--1	< 1	Totaal	1	2 met embryo's	3	4	Totaal
1	14,3	11,4	7,1	—	1	2	—	—	5	8	4	—	—	1	5
2	15,0	11,3	7,3	—	—	1L	—	—	4	5	4	—	—	—	4
3	15,0	12,1	7,8	—	1L	1	1	1	7	9	5	2	—	—	7
4	15,2	12,5	7,8	—	1	1	—	2	—	4	3	—	—	—	3
5	15,3	12,5	8,0	—	1	—	—	2	4	7	5	1	—	—	6
6	15,6	12,8	7,9	—	1	—	2	—	1	4	2	1	—	—	3
7	15,7	12,6	7,9	—	1	1	—	2	5	6	2	—	—	1	6
8	16,0	12,0	8,0	—	1	—	—	3	—	4	4	—	—	—	4
9	16,0	12,8	8,0	—	1	1	2	2	2	8	2	3	—	—	5
10	16,0	12,8	8,1	—	—	1	1	—	6	8	6	1	—	—	7
11	16,0	12,9	8,2	—	—	1	1	—	6	8	3	1	1	—	5
12	16,1	12,9	8,9	—	2	2	3	3	4	12	1	1	3	—	10
13	16,1	13,0	8,1	1	1	1	3	—	8	13	7	3	—	—	10
14	16,2	12,7	8,0	—	1	—	3	—	3	8	3	—	1	—	4
15	16,5	13,0	8,5	—	1	1	—	1	4	7	5	2	—	—	5
16	16,5	13,0	8,4	—	1L	1L,1	1	—	6	8	6	1	—	—	6
17	16,8	13,0	8,1	—	—	1	—	2	3	6	6	—	—	—	6
18	16,9	13,0	8,8	—	2	—	—	1	7	10	7	—	1	—	8
19	17,0	13,0	8,5	—	—	1	1	—	3	4	4	—	—	—	4
20	17,0	13,5	9,0	—	1	1	—	1	5	7	7	1	—	—	7
				1L	—	1	1	1	4	8	6	1	—	—	7
				—	1	—	—	—	4	5	2	—	—	—	3
				—	—	—	—	—	3	5	5	—	—	—	5
				—	1	1	—	1	11	13	7	3	—	—	10
				—	1L	1	1	1	5	9	6	1	—	—	7
				—	1	1	1	—	13	16	2	2	1	—	7
				—	1	1	1	1	5	7	4	—	—	—	5
				—	1	1	—	1	6	9	5	2	—	—	7
				1L	—	—	1	—	6	8	3	2	—	—	5

TABEL II.

1	13,2	10,8	6,3	—	—	—	—	1	4	5	3	1	—	—	4
2	14,0	11,5	6,9	—	—	—	—	3	5	8	5	—	1	—	6
3	16,0	12,9	7,8	—	—	1	1	1	3	6	6	—	—	—	5
4	16,2	13,2	8,4	—	—	1	1	1	2	4	4	—	—	—	6
5	17,0	13,0	8,6	—	—	2	2	3	5	8	5	—	1	—	6
6	17,0	13,5	8,3	—	—	2	—	2	2	11	5	3	—	—	8
7	17,1	13,6	8,8	—	1	1	2	3	2	7	7	—	—	—	7
8	17,1	14,0	8,6	—	1	3	1	2	4	10	6	2	—	—	8
9	17,1	14,0	9,0	—	—	—	—	1	4	8	1	2	1	—	4
10	20,0	15,4	10,6	—	—	—	—	—	4	5	3	1	—	—	4
				—	—	—	—	—	8	9	4	1	1	—	6
				—	—	2	1	2	7	12	4	4	—	—	8
				—	—	1	—	—	4	5	3	1	—	—	4
				—	—	2	—	—	7	9	5	2	—	—	7
				—	—	2	2	1	3	8	4	2	—	—	6
				—	—	1	2	—	7	10	8	1	—	—	9
				1L	1L	—	1	2	2	7	3	1	—	—	4
				—	—	1	3	1	4	9	5	2	—	—	7

TABEL I.

Nr.	Lengte	Hoogte	Dikte	Aantal embryo's (lengte in mm.)							Totaal	Aantal zakken				
				6-5	5-4	4-3	3-2	2-1	< 1	1		2 met embryo's	3	4	Totaal	
1	14,3	11,4	7,1	—	1	2	—	—	5	8	4	—	—	1	5	
2	15,0	11,3	7,3	—	—	1L	—	—	4	5	4	—	—	—	4	
3	15,0	12,1	7,8	—	1L	1	1	1	7	9	5	2	—	—	7	
4	15,2	12,5	7,8	—	—	1	—	2	—	4	3	—	—	—	3	
5	15,3	12,5	8,0	—	1	—	—	2	4	7	5	1	—	—	5	
6	15,6	12,8	7,9	—	1	—	2	—	1	4	2	1	—	—	3	
7	15,7	12,6	7,9	—	—	—	—	1	5	6	2	—	—	1	3	
8	16,0	12,0	8,0	—	1	1	—	2	5	9	5	—	—	1	6	
9	16,0	12,8	8,0	—	1	—	—	3	—	4	4	—	—	—	4	
10	16,0	12,8	8,1	—	1	1	2	2	2	8	2	3	—	—	5	
11	16,0	12,9	8,2	—	—	1	1	—	6	8	6	1	—	—	7	
12	16,1	12,9	8,9	—	—	1	1	1	6	8	3	1	1	—	5	
13	16,1	13,0	8,1	—	1	—	—	—	4	7	3	—	—	—	4	
14	16,2	12,7	8,0	—	1	—	3	—	6	7	5	2	—	—	5	
15	16,5	13,0	8,5	—	—	1	—	1	6	7	3	1	—	—	6	
16	16,5	13,0	8,4	—	1L	1L, 1	1	1	3	8	6	—	—	—	6	
17	16,8	13,0	8,1	—	—	1	—	2	3	6	6	—	—	—	6	
18	16,9	13,0	8,8	—	2	—	—	1	7	10	7	—	1	—	8	
19	17,0	13,0	8,5	—	—	—	1	—	3	4	4	—	—	—	4	
20	17,0	13,5	9,0	—	1	1	1	1	5	7	7	1	—	—	7	
				1L	—	—	—	—	4	8	6	—	—	—	7	
				—	—	—	—	—	6	9	5	2	—	—	8	
				—	—	—	—	—	2	8	3	—	—	—	5	

TABEL II.

23	17,5	13,5	9,0	—	2	—	—	—	10	14	9	—	—	—	—	11
24	17,5	13,6	9,2	—	1	—	—	—	11	14	7	—	—	—	—	5
25	17,8	13,7	8,8	—	1	—	—	—	5	9	9	—	—	—	—	9
26	17,9	14,0	9,0	—	—	—	—	—	—	1	6	—	—	—	—	7
27	18,0	14,4	9,8	—	1L, 1	3	—	2	7	8	8	—	—	—	—	0
28	18,1	14,1	9,2	—	2	3	2	—	7	14	6	2	1	—	—	8
29	18,8	14,9	10,0	—	1	—	—	—	6	13	6	2	—	—	—	9
30	19,0	15,0	10,0	—	—	—	—	2	4	10	3	2	—	—	—	5
31	19,1	15,0	10,3	—	—	—	—	3	8	5	5	—	—	—	—	5
32	19,1	15,3	10,0	—	—	—	—	—	6	10	6	2	—	—	—	8
33	19,5	15,2	10,0	—	—	—	—	—	10	7	5	2	—	—	—	5
34	19,8	15,0	11,0	—	1	—	—	—	8	10	6	1	—	—	—	7
35	20,0	15,8	11,3	—	1	—	—	—	12	7	7	—	—	—	—	8
1	13,2	10,8	6,3	—	—	—	—	1	8	0	3	—	—	—	—	0
2	14,0	11,5	6,9	—	—	—	—	3	2	2	2	1	—	—	—	2
3	16,0	12,9	7,8	—	—	—	—	2	4	4	0	—	—	—	—	3
4	16,2	13,2	8,4	—	—	—	—	—	4	0	4	—	—	—	—	0
5	17,0	13,0	8,6	—	—	—	—	—	2	4	3	—	—	—	—	4
6	17,0	13,5	8,3	—	—	—	—	—	6	8	4	2	—	—	—	3
7	17,1	13,6	8,8	—	—	—	—	—	—	4	4	—	—	—	—	4
8	17,1	14,0	8,6	—	—	—	—	—	1	8	3	1	—	—	—	6
9	17,1	14,0	9,0	—	—	—	—	—	7	12	4	4	—	—	—	8
10	20,0	15,4	10,6	—	—	—	—	—	4	5	3	2	—	—	—	4
11	—	—	—	—	—	—	—	—	7	9	5	2	—	—	—	7
12	—	—	—	—	—	—	—	—	3	8	4	1	—	—	—	6
13	—	—	—	—	—	—	—	—	2	10	8	1	—	—	—	9
14	—	—	—	—	—	—	—	—	4	7	6	2	—	—	—	4
15	—	—	—	—	—	—	—	—	6	9	1	1	—	—	—	4
16	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	3	1	—	—	—	6
17	—	—	—	—	—	—	—	—	7	12	4	4	—	—	—	8
18	—	—	—	—	—	—	—	—	4	5	3	2	—	—	—	4
19	—	—	—	—	—	—	—	—	7	9	5	2	—	—	—	7
20	—	—	—	—	—	—	—	—	3	8	4	1	—	—	—	6
21	—	—	—	—	—	—	—	—	2	10	8	1	—	—	—	9
22	—	—	—	—	—	—	—	—	4	7	6	2	—	—	—	4
23	—	—	—	—	—	—	—	—	6	9	1	1	—	—	—	7
24	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	3	2	—	—	—	5
25	—	—	—	—	—	—	—	—	7	12	4	4	—	—	—	8
26	—	—	—	—	—	—	—	—	4	5	3	2	—	—	—	4
27	—	—	—	—	—	—	—	—	7	9	5	2	—	—	—	7
28	—	—	—	—	—	—	—	—	3	8	4	1	—	—	—	6
29	—	—	—	—	—	—	—	—	2	10	8	1	—	—	—	9
30	—	—	—	—	—	—	—	—	4	7	6	2	—	—	—	4
31	—	—	—	—	—	—	—	—	6	9	1	1	—	—	—	7
32	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	3	2	—	—	—	5
33	—	—	—	—	—	—	—	—	7	12	4	4	—	—	—	8
34	—	—	—	—	—	—	—	—	4	5	3	2	—	—	—	4
35	—	—	—	—	—	—	—	—	7	9	5	2	—	—	—	7
36	—	—	—	—	—	—	—	—	3	8	4	1	—	—	—	6
37	—	—	—	—	—	—	—	—	2	10	8	1	—	—	—	9
38	—	—	—	—	—	—	—	—	4	7	6	2	—	—	—	4
39	—	—	—	—	—	—	—	—	6	9	1	1	—	—	—	7
40	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	3	2	—	—	—	5

L = los, niet in een zak ingesloten embryo.

Uit deze tabel blijkt:

1e. dat het aantal embryo's en hun grootte niet afhankelijk zijn van de grootte van het dier (binnen zekere grenzen);

2e. dat embryo's van verschillende grootte naast elkaar in één kieuw voorkomen;

3e. dat de zakken met 1 embryo verreweg het talrijkst zijn, dan volgen die met twee, dan die met 3, terwijl die met 4 embryo's tamelijk zelden voorkomen;

4e. dat in de linker kieuw meestal meer embryo's voorkomen dan in de rechter. Dit is mij vooral opgevallen bij het praepareeren;

5e. dat het aantal embryo's sterk afneemt, wanneer de dieren een lengte van ongeveer 19 mm bereikt hebben.

In tabel II heb ik ter vergelijking den inhoud van de beide kieuwen van een 10-tal individuen, die in Mei gevangen waren, opgegeven.

Bij vergelijking met de eerste tabel blijkt:

1e. dat het aantal embryo's kleiner is;

2e. dat vooral de grootere embryo's ontbreken.

Waarschijnlijk hadden de groote embryo's, die zich in November in de kieuw bevonden, deze al verlaten, terwijl de kleine zakjes, die er zich toen in bevonden, in Mei reeds iets verder ontwikkeld waren.

Vóór Mei vond ik noch eieren, noch klievingsstadia in de kieuwen, wel embryo's van 0,2 mm. Hoe lang de eieren nodig hebben om zich tot een mosseltje van 5,5 mm te ontwikkelen, kan ik niet zeggen. Om dit te beslissen zou men een geheel jaar lang den inhoud van de kieuwen van een groot aantal dieren moeten onderzoeken. Met kweekproeven schijnt men niet veel verder te komen, reeds *Stepanoff* (1865 p. 12) heeft erop gewezen, dat *Sphaerium* in het aquarium geen eieren meer voortbrengt: in dieren, die hij ongeveer 14 dagen in het aquarium hield, vond hij nooit klievingsstadia. Ook *Stauffacher* (1894 p. 210) heeft hetzelfde opgemerkt. Wanneer men nu den inhoud van de kieuwen gedurende het verblijf in de kieuwen kon controleeren,

zou men natuurlijk kunnen nagaan, hoe lang de ontwikkeling duurt. Dit is helaas niet het geval.

Het lijkt mij onwaarschijnlijk, dat de geheele ontwikkeling slechts korten tijd zou duren. De volume-toename gedurende de ontwikkeling is zeer sterk; al het voedsel moet door het oude dier worden aangevoerd, terwijl het aantal embryo's in beide kieuwen samen vrij groot is (in No. 27 bijv. 27). Ik acht het daarom zeer goed mogelijk, dat de ontwikkeling een geheel jaar duurt, dat dus de embryo's, die zich in het voorjaar uit de eieren ontwikkelen, pas het volgend jaar de kieuw verlaten.

De allergrootste dieren, die ik heb waargenomen, met een lengte van bijna 20 mm, bevatten steeds zeer weinig embryo's. Dit viel des te meer op, doordat de kieuwen van deze dieren steeds sterk waren opgezwollen en ik dus een groot aantal embryo's verwachtte te vinden. De vorm van de kieuw wordt namelijk, zooals te begripen is, beïnvloed door den inhoud. Het bovenste gedeelte is gewoonlijk sterk opgezwollen, terwijl de omtrekken van de groote embryo's aan den buitenkant van de kieuw zijn waar te nemen (zie fig. I, Pl. I). In de grootste dieren met sterk opgezwollen kieuwen vond ik meestal slechts 1 of 2 groote en eenige kleine embryo's. Men mag dus wel aannemen, dat deze dieren geen eieren meer produceeren, óf dat de kieuw niet meer op de aanwezigheid van eieren reageert met de vorming van een zakje. Ik bezit helaas geen serie door een dergelijk dier, zoodat ik niet kan uitmaken wat de oorzaak van dit ontbreken van embryo's in groote dieren is.

Verder valt het op, dat vóór in de kieuw de grootste zakken met de grootste embryo's zijn vastgehecht, terwijl men, steeds verder naar achter komend, ook steeds kleinere zakjes vindt. De groote zakken hebben vóór in de kieuw niet voldoende ruimte, naar achteren kunnen zij echter ook niet uitgroeien, aangezien zich daar de kleinere zakken bevinden. Zoo is er geen andere plaats, waar voldoende ruimte ter beschikking is, dan in het bovenste gedeelte van de kieuwholte. Hier vindt men dan ook

de groote embryo's, terwijl de zakken, waarin zij zijn gelegen, met een langen, dunnen steel aan de onderzijde van de kieuw-holte zijn bevestigd.

Maakt men een kieuw van het lichaam los en bekijkt men haar van den binnenkant, dan krijgt men slechts deze groote embryo's te zien, zooals uit fig. II Pl. I blijkt. Verwijdert men deze, dan komen een aantal kleinere voor den dag, terwijl onder deze nog kleinere zijn gelegen. Het blijkt daarbij, dat steeds eenige zakjes van dezelfde grootte (met even oude embryo's) bij elkaar liggen, dat er dus groepjes van even groote zakjes zijn. (Of, wat ook voorkomt, er bevinden zich meerdere even groote embryo's in één zak). *Wasserloos* heeft hier reeds op gewezen en heeft, om het te verklaren, aangenomen, dat er een zekere periodiciteit in het rijpen van de geslachtsproducten zou bestaan. (1911 p. 257). Ik kan daaraan nog toevoegen, dat er dikwijls 3 à 4 eieren tegelijkertijd in de kieuw terecht komen, zooals ik meermalen heb waargenomen. Daaruit behoeft men echter nog niet te besluiten, dat de eieren periodiek de geslachtsorganen verlaten, zooals ik later zal aantonen.

Versmelten van broedzakken.

Stepanoff (1865 p. 13) veronderstelde, dat de broedzakken met elkaar kunnen gaan versmelten, zoodat groote zakken met vele (tot 7) embryo's ontstaan. Als bewijzen voerde hij aan: 1e. dat de jonge zakjes slechts 1 of 2, de groote daarentegen vele embryo's bevatten; 2e. dat in de groote zakken dikwijls plooien voorkomen, die de embryo's min of meer van elkaar scheiden.

Mej. Schereschewsky (1911 p. 681 en p. 692) was het niet met *Stepanoff* eens. Versmelting van zakken komt volgens haar niet voor. De plooien in de zakken nam zij ook waar; zij zag er „Kiemenblätter” ¹⁾ in, die in den broedzak zijn gegroeid en dezen zoo in een aantal met elkaar communiceerende ruimten verdeelen.

¹⁾ Hiermede is natuurlijk het subsegmentaire weefsel bedoeld, aangezien gewoonlijk onder „Kiemenblatt” de geheele kieuw wordt verstaan.

Aangezien ik *Sphaerium corneum* niet onderzocht, kan ik natuurlijk niet uitmaken, wie gelijk heeft.

Ik heb de plooien in de broedzakken met meerdere embryo's ook waargenomen (zie fig. 8a) en heb me dus ook moeten afvragen hoe deze zijn ontstaan. Ik ben daarbij tot de overtuiging gekomen, dat twee zakken, die aan naast elkaar gelegen segmenten bevestigd zijn, met elkaar kunnen versmelten: de wand tusschen

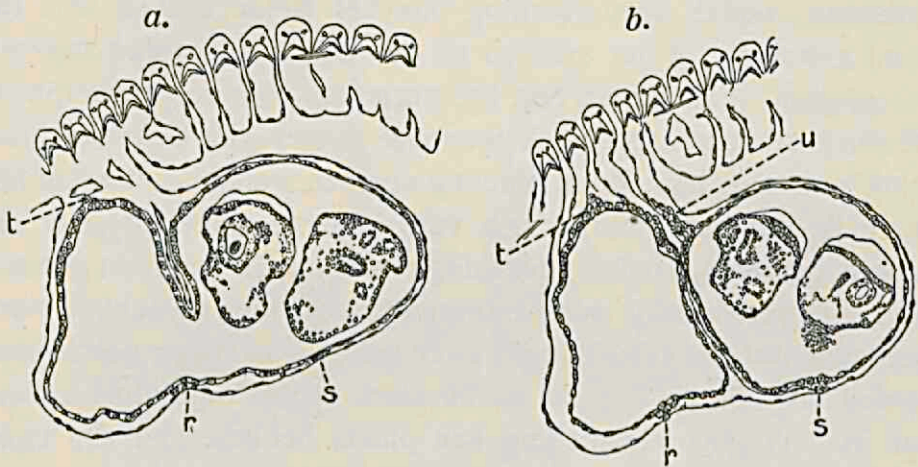


Fig. 8a. Doorsnede door een broedzak met twee embryo's. De plooi verdeelt den zak in twee communiqueerende ruimten.

b. Doorsnede door denzelfden zak, hooger getroffen. De zak blijkt uit twee versmolten zakken te bestaan. Het embryo uit den eenen zak is overgegaan naar den anderen. Bij r en s de beide verbindingen tusschen de twee lagen van de wand, bij t en u de beide andere plaatsen, waar het subsegmentaire weefsel zich om de eieren heeft gesloten. Vergr. 70 $\times$.

deze zakken kan gedeeltelijk blijven bestaan, en zoo de genoemde tusschenschotten vormen. Aan zakken van middelmatige grootte is dit zeer moeilijk te bewijzen. Toch blijkt het o.a. uit het feit, dat dergelijke zakken aan meer dan twee, meestal aan vier segmenten zijn bevestigd, terwijl enkelvoudige zakken gewoonlijk slechts met twee segmenten samenhangen, hetgeen uit de wijze van ontstaan te verklaren is, zooals later zal blijken. Ook zijn de beide lagen, waaruit de wand van den broedzak bestaat, op meer dan één plaats met elkaar vergroeid, terwijl dit in enkelvoudige zakken slechts op één plaats het geval is (absoluut be-

wijzend is dit echter niet, aangezien het eerste geval — verbinding op twee plaatsen — ook voorkomt in zakken, die uit drie segmenten zijn ontstaan).

Een enkele keer komt het voor, dat de broedzak door een onvolkomen tusschenschot in twee met elkaar communiceerende ruimten is verdeeld, waarvan de eene twee, de andere daarentegen geen enkel embryo bevat. Dit is natuurlijk gemakkelijk te verklaren: nadat de verbinding tusschen beide zakken was tot stand gekomen, is het embryo uit den eenen zak in den anderen overgegaan. (Fig. 8a en 8b). Een argument voor de versmeltings-theorie is dit echter niet; ook wanneer in een zak een tusschenschot ontstaat, bijv. door plooiing van den wand, is het natuurlijk mogelijk, dat een embryo zich van de eene afdeeling naar de andere beweegt, zoolang deze nog met elkaar in verbinding staan. *Mej. Schereschewsky* schijnt trouwens ook niet te hebben aangenomen, dat een verdeeling in twee geheel van elkaar gescheiden deelen mogelijk is. Fig. 9a en 9b laten echter overtuigend zien, dat er werkelijk versmelting kan plaats hebben. Het zijn twee doorsneden door een broedzak, *a.* door het onderste, *b.* door het bovenste gedeelte. In *b.* ziet men twee duidelijk van elkaar gescheiden zakjes, die beide volmaakt denzelfden bouw en dezelfde aanhechting hebben als andere enkelvoudige zakjes. In *a.* ziet men echter, hoe deze zakjes, die aan naast elkaar gelegen segmenten zijn vastgehecht, bij hun groei tegen elkaar gegroeid en tenslotte versmolten zijn.

Versmelting kan dus m.i. voorkomen. Daarmee wil ik echter niet zeggen, dat alle zakken die meer dan één embryo bevatten, door versmelting van meerdere zakken zijn ontstaan. Het is namelijk ook mogelijk, dat meerdere eieren bij het ontstaan van de broedzakken gezamenlijk worden ingesloten. Zoo komen bijv. zakjes voor met twee eieren, waarbij zeker geen versmelting heeft plaats gehad. Fig. III, Pl. I geeft een afbeelding van een zak met vier embryo's.

Naarmate de zakken groter worden, worden zij ook meer in elkaar gedrongen, zoodat het zeer moeilijk wordt grenzen tus-

schen de zakken waar te nemen. Misschien heeft *Stepanoff* zich daardoor laten misleiden en gemeend, dat in de oudere zakken meerdere embryo's voorkomen. Overigens beeldt hij in zijn figuur 5 op Taf. I een zak af, die 7 betrekkelijk jonge embryo's bevat. Deze zak is bevestigd aan drie segmenten, zoodat het mogelijk

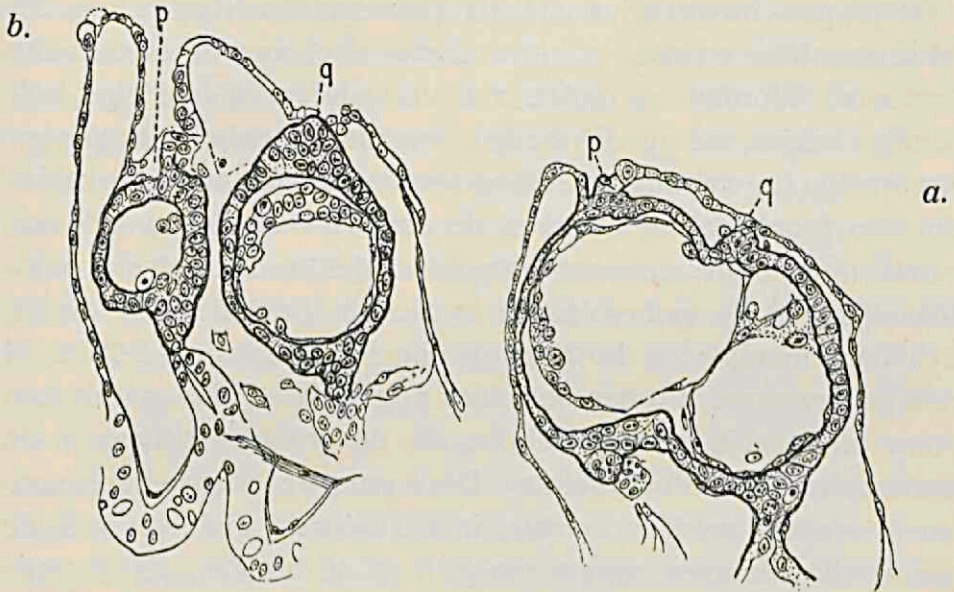


Fig. 9a. Doorsnede door een jongen zak met twee embryo's.
Fig. 9b. Doorsnede door denzelfden zak, iets hooger. Hieruit blijkt, dat de zak eigenlijk uit twee versmolten zakjes bestaat, gelegen tusschen het subsegmentaire weefsel van drie aan elkaar grenzende filamenten. Bij p en q de verbindingen tusschen de binnenste en de buitenste laag van den wand. Vergr. 200 $\times$.

is, dat hij door versmelting van twee zakken met resp. 3 en 4 embryo's is ontstaan. Het is echter ook zeer goed mogelijk, dat de toestand bij *Sphaerium corneum* een andere is dan bij *Sphaerium rivicola*.

Wanneer bij de laatste soort groote zakken meerdere embryo's bevatten, lijkt het dikwijls, of men met samengestelde zakken te doen heeft. Dit komt, doordat de wand van de oude zakken zeer nauw om de embryo's sluit, zoodat de zak uit evenveel deelen samengesteld schijnt te zijn, als er zich embryo's in be-

vinden. Daardoor is dan ook dikwijls niet uit te maken, of men met één of met meerdere zakken te doen heeft. In de tabel heb ik in dergelijke twijfelachtige gevallen evenveel zakken geteld, als er embryo's waren.

De vorm van de broedzakken.

De jongste broedzakjes zijn als kleine aanzwellingen van het subsegmentaire weefsel in het onderste deel van de kieuwholte zichtbaar. Worden zij ouder, dan veranderen zij in kleine bolvormige zakjes, die op den bodem van de kieuwholte liggen en met eenige (gewoonlijk twee) segmenten samenhangen. De zakjes zijn zoo groot, dat er tusschen de embryo's en den wand nog ruimte open blijft; de vorm van de zakjes is dan ook nog onafhankelijk van de embryo's, die er zich in bevinden en die er zich met behulp van de trilharen, die het lichaam bedekken, in kunnen bewegen. Worden de zakjes nog grooter, dan wordt hun vorm afhankelijk van de ruimte, die de grootere zakken in de kieuwholte hebben overgelaten. Deze groote zakken hebben, zooals ik vroeger reeds opmerkte, in het voorste gedeelte van de kieuw dikwijls geen ruimte om zich uit te breiden. Zij moeten dan over de andere zakken, die er achter gelegen zijn, heengroeien en worden daardoor min of meer peervormig. De eigenlijke zak, die in het bovenste gedeelte van de kieuwholte over de andere zakken heenligt, is dunwandig en gaat naar voren over in een smalleren steel, die naar beneden omgebogen en in het onderste deel van de kieuwholte aan het subsegmentaire weefsel bevestigd is. Deze grootere zakken zijn niet meer zoo ruim als de jongere; de wand sluit eng om de embryo's heen. De steel bestaat uit hooge cellen en is in niet gefixeerden toestand veel minder doorzichtig dan de eigenlijke zak.

Histologie van den wand.

De wand van de broedzakken heeft altijd de belangstelling van de onderzoekers gehad. *Leydig* heeft het eerst den wand van de zakken van *Sphaerium corneum* beschreven (1855 p. 60). „Die Bruttaschen wimpern weder aussen noch innen und

haben an ihrer Innenfläche eine sehr merkwürdige Zellenlage, die wahrscheinlich die Absonderung der hellen Flüssigkeit besorgt, in der die Früchte schwimmen. Die Zellen sind von sehr verschiedener Grösse, indem sie von 0,002—0,024''' und selbst 0,04''' messen; die kleinsten haben die gewöhnlichen Charaktere elementarer Zellen, die grösseren aber, welche in das Innere der Bruttaschen knospenartig vorspringen, zeigen eine äussere Eiweisszone, die sehr wenig dem Wassereinfluss widersteht und bald bedeutend aufquillt, dann einen körnigen Inhalt, in welchem eine ungewöhnliche starke Vermehrung der Kerne statt hat (ich zählte 20 und mehr) ohne dass die Inhaltskörnchen sich um die neuen Kerne gruppiert hätten." *Stepanoff* merkte het eerst op, dat de wand uit twee verschillende lagen bestaat. (1865 p. 12). *Ziegler* (1885 p. 562) deelt niets nieuws mede, terwijl *de Bruyne* (1895 Pl. XI f. 2) een afbeelding geeft, waaruit niet wijs te worden is, zooals *Poyarkoff* reeds zeer terecht opmerkte (1910 p. CXXVII). „la figure élégante de *de Bruyne* (1898) qui représente un sac d'incubation est tellement éloignée de la réalité qu'on est presque tenté de se demander si l'auteur a jamais examiné véritablement des préparations de *Cyclas*." *Poyarkoff* gaf zelf een betere beschrijving (1910 p. CXXVI) evenals *Mej. Schereschewsky* (1911 p. 681). Bij mijn beschrijving zal ik op hun werk terugkomen.

De bouw van den wand van de zakken verandert, naarmate deze ouder worden. Steeds bestaat de wand echter uit twee lagen, van welke alleen de binnenste veranderingen ondergaat. De buitenste is zeer dun en bestaat uit één enkele dunne laag van cellen, waarvan de kernen ver uit elkaar liggen. Deze kernen zijn ovaal, met weinig chromatinekorrels en één ronden nucleolus. De buitenlaag van den wand komt dus, wat structuur betreft, volmaakt overeen met de interlamellaire verbindingen of met het subsegmentaire weefsel.

De binnenste laag heeft een geheel andere structuur. Dat heeft tot gevolg gehad, dat de meeste onderzoekers niet hebben ingezien, dat beide lagen denzelfden oorsprong hebben. *Stepanoff*

bijv. zegt hiervan: „Man unterscheidet an den gezeichneten Säcken zwei Schichten von Epithelialzellen, eine äussere, die aus hellen kleinen Elementen besteht, welche unmittelbar als Fortsetzung der zwischen den einzelnen Säulen der Kiemen liegenden Zellmembran zu betrachten ist, und eine innere, die aus den grossen Zellen der Kiemensäulen selbst gebildet wird.” (1865 p. 12). *Poyarkoff* (1910 p. CXXVI): „... dont l'assise externe est en continuité avec l'épithélium des filaments branchiaux et dont l'assise interne forme une sorte de sac clos.” Wij zullen in een volgend hoofdstuk zien, dat beide lagen zijn ontstaan uit het subsegmentaire weefsel.

In den dubbelen wand bevindt zich een holte, die in verbinding staat met de holten van de filamenten, waarmee de broedzak samenhangt. In de holte vindt men ook weer de bloedcellen. De beide lagen zijn verbonden door strengen bindweefsel, zooals men ook tusschen de interlamellaire verbindingen aantreft, dunne protoplasmadraden met weinige kernen. Bovendien ziet men in iedere doorsnede door een zak een uit eenige cellagen bestaand verbindingsstukje tusschen de buitenste en de binnenste laag van den wand. (Zie fig. 8r en s).

De verbindingsstukjes van alle doorsneden vormen samen een tusschenschot, dat de holte in den dubbelen wand in tweeën verdeelt. Dit tusschenschot komt zoo constant voor, dat het te verwonderen is, dat het nog nooit is beschreven. De aanwezigheid ervan is een gevolg van de eigenaardige wijze van ontstaan van den broedzak.

De binnenste laag van den wand van de oudere broedzakken vertoont een zeer merkwaardige structuur. Zij bestaat uit zeer verschillende soorten van cellen, die echter door overgangen met elkaar zijn verbonden. Cellen van dezelfde soort liggen steeds in groepjes bij elkaar. Ik zal eerst de beide uiterste van de reeks beschrijven.

De eerste soort vertoont niet veel bijzonders. Het zijn gewone cellen met ovale kernen en een zeer dicht protoplasma, dat met

ijzerhaematoxyline tamelijk donker gekleurd wordt. De kernen zijn ongeveer 10—12 μ groot; zij zijn overal scherp van het proto-

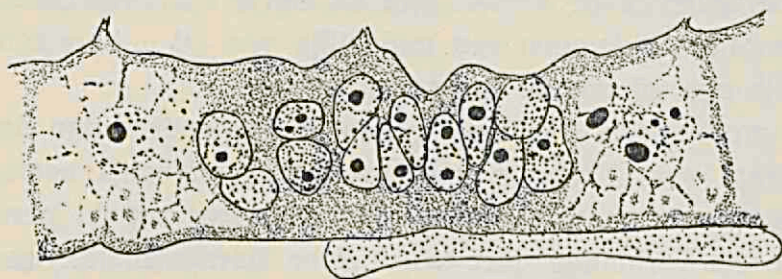


Fig. 10. Doorsnede door een gedeelte van den wand van een grooten broedzak. In het midden een groep cellen met kleine kernen, rechts en links daarvan groote cellen met onduidelijke kernen en sterk gevacuoliseerd protoplasma. Vergr. 1000 $\times$.

plasma gescheiden en zijn gevuld met chromatinekorreltjes, die overal gelijkmatig verspreid liggen. Verder komt in deze kernen steeds één nucleolus voor, ongeveer 1,8 μ groot. Rondom den nucleolus bevindt zich een heldere ruimte, doordat hier de korrels chromatine ontbreken. De cellen van deze soort liggen altijd in grotere groepen, meerdere cellagen dik, bijeen. Op verschillende foto's en teekeningen is dit duidelijk te zien. (Fig. 10, 11 en IV, V Pl. I). De andere cellen zien er heel anders uit. De kernen zijn veel groter dan die van de vorige soort, 20 μ en meer; de rand is gelobd. De chromatinekorrels zijn iets kleiner en iets lichter gekleurd, zoodat de geheele kern lichter schijnt. Het voornaamste kenmerk van deze cellen vormen de nucleoli. Het zijn er steeds meerdere, zelfs

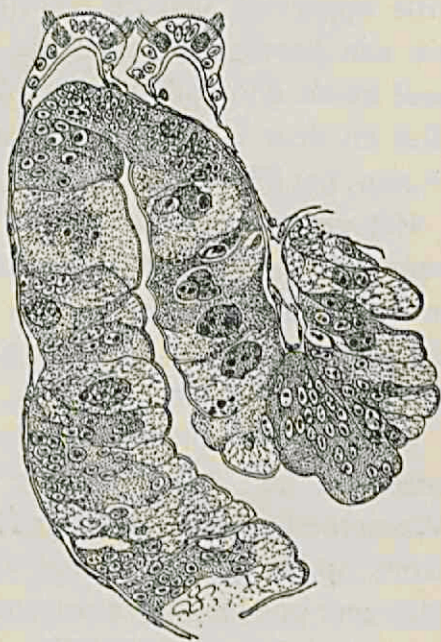


Fig. 11. Doorsnede door het deel van een broedzak, dat aan de kieuw (aan twee segmenten) is vastgehecht. Vergr. 200 $\times$.

10 tot 12. Zij zijn alle omgeven door een heldere ruimte, waarin de chromatinekorrels ontbreken. Deze nucleoli onderscheiden zich van die van de kernen van de eerste soort van cellen door hun grootte; zij kunnen een middellijn van 10 μ bereiken; gewoonlijk zijn zij min of meer ovaal.

Het protoplasma van deze cellen is ook anders dan dat van de vorige soort. Het is zeer grofmazig; eigenlijk bestaat het slechts uit een aantal strengen, die den kern met de peripherie van de cel verbinden. Het wordt door ijzerhaematoxyline niet gekleurd. In sommige cellen bevinden zich hier en daar op de protoplasmastringen korreltjes, die zich nu eens donker kleuren met ijzerhaematoxyline, dan weer ongekleurd blijven. In het laatste geval worden zij lichtgeel gekleurd door pikrinezuur. In de mazen van het protoplasmanet, vooral in de buurt van het vrije oppervlak van de cel, liggen korrels en grotere klompen, uit een homogene substantie, die niet door ijzerhaematoxyline, heel zwak door pikrinezuur of eosine gekleurd wordt, bestaand. Hier en daar is de grens tusschen kern en protoplasma bijna niet te zien; het lijkt dan, of de kern geleidelijk in het plasma overgaat.

Het vrije oppervlak van de cellen wordt begrensd door een zoom van dichters protoplasma, die op de fig. 12 en VI Pl. II duidelijk te zien is. Oppervlakkig gezien lijkt deze zoom wel eenigszins op een cuticulair zoom, waarvoor *Mej. Schereschewsky* hem ook heeft gehouden.

Leydig (1855 p. 60) had dezen zoom reeds opgemerkt en beschreven als: „eine äussere Eiweisszone, die sehr wenig dem Wassereinfluss widersteht und bald bedeutend aufquillt”. *Poyarkoff* wees op de gelijkenis met een cuticulair zoom, maar zag toch zeer goed in, dat deze zoom slechts uit dichters protoplasma bestaat. (1910 p. CXXXVII). „Cette formation analogue jusqu' à un certain point au plateau strié d'un épithélium apparaît plus nettement dans les cellules âgées dont le réticulum devient lâche partout sauf au niveau de cette bande”. *Mej. Schereschewsky* drukte zich minder voorzichtig uit. „Auf der Zellperipherie bekommt man einen Streifen zu sehen, welcher dank seiner Struktur, als

Stäbchensaum aufzufassen ist." (1911 p. 682). Met de sterkste objectieven heb ik er geen spoor van de karakteristieke structuur van den cuticularen zoom in kunnen vinden. Uit de ontwikkeling

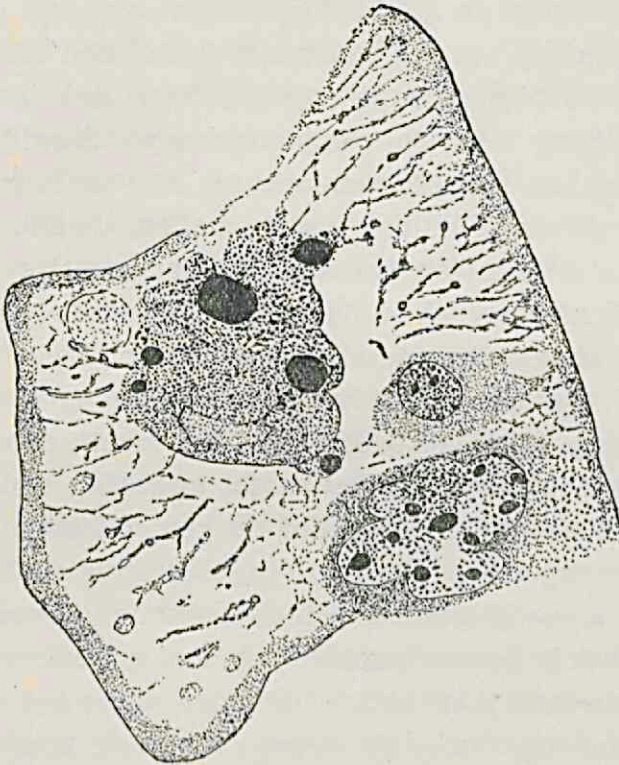


Fig. 12. Doorsnede door een groote cel van het steelgedeelte van een grooten broedzak. Aan de basis van de groote cel liggen twee kleine, één met een enkelvoudige en één met een complexe kern. Aan den vrijen rand (links) is de zoom van dichter protoplasma zichtbaar. Vergr. 1000 $\times$.

van deze cellen blijkt overigens ten duidelijkste, dat er van een cuticularen zoom geen sprake kan zijn.

Tusschen beide soorten cellen kan men in den wand van één broedzak alle overgangen vinden. (Uit de ontwikkeling van de broedzakken blijkt eveneens, dat die van de tweede soort uit die van de eerste soort ontstaan). In de eerste plaats zijn er cellen, die niet één, maar meerdere kernen bevatten, overigens

op die van de eerste soort gelijken. (Hoe de vele kernen er in zijn ontstaan zal ik op het oogenblik nog buiten beschouwing laten). De kernen liggen zoo dicht bij elkaar, dat de grenzen in vele gevallen nauwelijks zichtbaar zijn, vooral in doorsneden. In andere cellen zijn de afscheidingen ook werkelijk verdwenen; de kernen zijn dus tot één versmolten. Aan den rand van deze kern blijven de componenten nog zichtbaar; ook in de kern is de rangschikking van de chromatinekorrels dikwijls zoodanig, dat de omtrekken van de componenten nog wel zijn na te gaan. Naast deze cellen zijn er ook aan te treffen, waarin de nucleoli sterk in grootte zijn toegenomen. Of hun aantal ook is toegenomen, kan ik niet met zekerheid zeggen. Naast de groote nucleoli komen ook kleinere in dezelfde kern voor. Zijn dit nieuwgevormde, of zijn het nog onveranderd gebleven nucleoli? *Mej. Schereschewsky* (1911 p. 690) neemt het eerste aan. Er is veel voor te zeggen; zoo kan bijv. het aantal nucleolen zóó groot zijn, dat het bijna onmogelijk lijkt, dat de kern uit evenveel kernen zou zijn samengesteld. *Poyarkoff* beschreef nog een derde mogelijkheid: de nucleoli zouden zich door insnoering kunnen deelen. Hiervoor heb ik in de praeparaten ook wel aanwijzingen kunnen vinden. Bij de bespreking van de literatuur, die op het ontstaan van den wand van den broedzak betrekking heeft, kom ik op deze kwestie nog terug. Met het grooter worden van de nucleoli, of liever reeds met het ontstaan van de complexe kernen, blijken veranderingen in de structuur van het protoplasma samen te gaan. Door het optreden van vacuolen wordt het netvormig, tot het tenslotte nog slechts uit onregelmatige strengen bestaat, die van de kern naar den omtrek van de cel loopen. In een aantal cellen worden deze plasmadraden zeer donker gekleurd door ijzerhaematoxyline, waardoor deze cellen bijzonder karakteristiek worden. In het midden ligt de groote kern met de vele reusachtige nucleoli, daaromheen zwartgekleurde, onregelmatige plasmadraden met heldere ruimten er tusschen, en aan de peripherie de dichte plasmazoom. (Hier en daar liggen op de plasmadraden kleine zwartgekleurde korreltjes).

Tenslotte zijn er cellen, waarvan het protoplasma niet gekleurd is, in de mazen bevindt zich de structuurlooze, niet of zwak gekleurde substantie.

Het deel van den broedzak, dat aan de kieuw bevestigd is, bestaat uit veel grootere cellen dan de rest. Daar zijn cellen bij van 0,09 mm hoogte, met kernen van 0,04 mm. Vooral de nucleoli kunnen hier reusachtige afmetingen bereiken, 10 μ . Van het steelgedeelte af worden de cellen langzamerhand lager, terwijl het andere uiteinde van den broedzak zóó dun kan zijn, dat er bijna geen verschil is tusschen de binnenste en de buitenste laag van den wand. Ook op andere plaatsen kunnen zulke dunne plekken voorkomen. Toch zijn ook hier cellen te vinden, die dezelfde eigenaardigheden vertoonen als de groote cellen.

Ontstaan van de complexe kernen.

Zooals ik hierboven (blz. 44) reeds geschreven heb, ontstaan de groote complexe kernen door versmelting van meerdere enkelvoudige van een meerkernige cel. De vraag is nu echter, hoe die meerkernige cel is ontstaan, door versmelting van meerdere cellen of door kerndeelingen, niet gevolgd door celdeeling. Oorspronkelijk dacht ik, dat het eerste het geval was. Ik had toen het wordingsproces van de groote cellen alleen aan doorsneden bestudeerd. Praeparaten van den geheelen wand, gekleurd met haematoxyline, leerden mij echter, dat ik het beeld, dat de doorsneden mij vertoonden, verkeerd geïnterpreteerd had. In de kleine cellen van den wand gaan de kernen zich door insnoering deelen, zoodat meerkernige cellen ontstaan. Het is dit insnoeringsproces, dat in doorsneden zoo moeilijk te herkennen is. Alleen wanneer de beide helften, waarin de kern zich gaat verdeelen, en het deel, waardoor zij nog samenhangen, in één doorsnede getroffen zijn, is de insnoering in doorsneden te zien. Totaalpraeparaten toonen de deelen van de kern samenhangend. Soms is het stuk, waardoor de beide helften van zoo'n kern samenhangen, uiterst dun, en wel 18 μ lang. Zulke gevallen bewijzen, dat er hier werkelijk

een deeling van de kern plaats heeft en geen versmelting van twee kernen. Ieder van de beide, door deeling ontstane kernen bezit één nucleolus, die hoogstwaarschijnlijk uit den nucleolus van de gedeelde cel eveneens door deeling is ontstaan. Het is mij niet mogen gelukken de deeling van den nucleolus te vinden: *Poyarkoff* schijnt gelukkiger te zijn geweest en heeft er ook een afbeelding van gegeven (1910, fig. 3). Nadat dit proces zich eenige malen heeft herhaald en de cel op deze wijze een aantal kernen heeft gekregen, beginnen de kernen te versmelten tot één groote complexe kern met een gelobden rand. Aan zulke kernen ontstaan weleens uitstulpingen; ik geloof echter niet, dat deze loslaten; zij vergrooten alleen het oppervlak.

Vergelijkt men de kernen van den wand van de jonge broedzakken met die van iets oudere, dan ziet men, dat er gedurende den eersten groei van den zak veranderingen in een aantal kernen hebben plaats gegrepen. In de eerste plaats zijn zij grooter geworden, in de tweede plaats is de hoeveelheid chromatine in de kern toegenomen, zoodat deze dicht gevuld is met kleine korreltjes chromatine. Door deze veranderingen schijnen de kernen het vermogen, om zich mitotisch te kunnen deelen, te hebben verloren. Mitosen zijn dan ook zeldzaam; zij komen veel minder voor, dan men in een groeiend orgaan, zooals de broedzak is, zou verwachten. Wel komen abnormale mitosen voor, waarbij de chromosomen onregelmatig verdeeld of in meerdere groepen vereenigd liggen (fig. 13) ¹⁾. Het is bij zulke abnormale deelingen moeilijk te zeggen, tot welke soort de zich deelende cel behoort. Mogelijk is, dat het deelingen zijn in cellen, die meerkernig zijn geworden en in welke alle kernen zich tegelijk deelen. Het zouden echter ook deelingen van complexe kernen kunnen zijn. Daartegen spreekt, dat ik in den wand van jonge zakjes, waarin nog geen complexe kernen voorkomen, abnormale deelingen heb aangetroffen. Soortgelijke deelingsfiguren komen ook in andere gevallen, waar cellen meerkernig zijn geworden, voor. (Zie *Heidenhain Plasma und Zelle* Bd. I, 1).

¹⁾ Van multipolaire deelingen mag ik niet spreken, aangezien het mij niet gelukt is meerdere centrosomen te ontdekken.

Literatuur.

Dit is mijn meening omtrent het ontstaan van de merkwaardige cellen van den wand, die bij het zien van de doorsneden altijd dadelijk in het oog vallen. Voor ik verder ga, wil ik de literatuur bespreken, die op dit onderwerp betrekking heeft. Veel is het niet; alleen *Poyarkoff* (1910) en *Mej. Schereschewsky* (1911) hebben dit vraagstuk bestudeerd en zijn tot zeer verschillende conclusies gekomen.

Poyarkoff (1910 p. CXXVIII) onderscheidde 3 manieren, waarop de complexe kernen zouden kunnen ontstaan:

- 1e. door knopvorming,
- 2e. door mitotische deelingen,
- 3e. door versmelting van meerdere kernen.

De argumenten, die hij aanvoert, wil ik met zijn eigen woorden weergeven.

„1.) *Bourgeonnement*. — L'aspect même des noyaux polymorphes suggère très souvent l'idée d'un bourgeonnement; cet aspect ne suffirait pas à lui seul à étayer suffisamment la croyance à la réalité du processus, mais il y a plus. Quelquefois on peut voir un noyau ordinaire former d'abord un petit bourgeon (fig. 2,a); ce bourgeon est sans doute ensuite susceptible de grandir. Mais ce qui prouve d'une façon décisive l'existence de ce mode de formation des noyaux polymorphes, c'est la division directe très nette de leurs nucléoles (fig. 2). Lorsque le bourgeon atteint certaines dimensions le nucléole du noyau-mère se divise et fournit ainsi les nucléoles aux noyaux bourgeons. Le nucléole peut se diviser à la fois en 3 portions comme le montre la figure 3.”



Fig. 13. Abnormale deeling uit den wand van een broedzak. De korrels chromatine liggen in meerdere groepen, een centrosoma met straling is zichtbaar. Vergr. 1600 $\times$.

Gedeeltelijk komt dit overeen, met wat ik heb beschreven.

Maar terwijl *Poyarkoff* zegt, dat er aan de kern een knop ontstaat, die een eigen nucleolus krijgt en met haar in verbinding blijft, heb ik waargenomen, dat de kern zich in twee gelijke of bijna gelijke deelen splitst, die zich op hun beurt weer kunnen splitsen, tot een aantal kernen zijn ontstaan, die met elkaar versmelten. Dat de nucleoli zich kunnen deelen, behoeft geen bewijs voor het ontstaan van de complexe kernen door knopvorming te zijn; er kan zeer goed een vermeerdering van het aantal nucleoli plaats vinden in de kern, zonder dat er knoppen aan ontstaan. Ik ontken hier dus allerm minst, dat de nucleoli zich zouden kunnen deelen.

Mej. Schereschewsky verwerpt de mogelijkheid van het ontstaan van complexe kernen door middel van knopvorming. Wat de nucleoli betreft, is zij het niet met *Poyarkoff* eens: „...ich aber bin eher geneigt zu denken, dass die Nukleolen in situ gebildet werden, dass es Anhäufungen eines sich im Kern bildenden Stoffes sind welche die Fähigkeit des Wachstums (durch weitere Ansammlungen des Stoffes) besitzen und mit einander zu vorübergehend grossen länglichen Gebilden verschmelzen können.” (1911 p. 690). Tegen deze opvatting is aan te voeren, dat ook in de gewone cellen van *Sphaerium* een nucleolus voorkomt. Dat *Mej. Schereschewsky* de nucleoli als ophooping van een stof, die in de kern gevormd wordt, beschouwt, hangt samen met de wijze, waarop zij zich de beteekenis van de groote cellen met complexe kernen denkt, nl. als kliercellen, die een voedingsstof voor de embryo's afscheiden. (Zie volgend hoofdstuk).

Wanneer ik het dus niet met *Poyarkoff* eens ben, dat de complexe kernen door knopvorming zouden ontstaan, geloof ik toch wel, dat, wanneer eenmaal de complexe kernen door versmelten van meerdere kernen zijn ontstaan, hun structuur gecompliceerder kan worden door knopvorming.

2.) *Karyokinèses*. Les noyaux ordinaires de petites cellules se multiplient par karyokinèses (fig. 1, k), mais chose étrange les

noyaux polymorphes de grosses cellules sont eux-mêmes capables de ce mode de multiplication.... Le noyau polymorphe présente une sorte de colonie de noyaux simples qui subissent simultanément la même évolution mais qui conservent une certaine indépendance réciproque. Chaque noyau bourgeon paraît se diviser par sa mitose propre; il en résulte pour l'ensemble de la cellule la formation d'une karyokinèse multipolaire.... Ces karyokinèses multipolaires des cellules de l'assise interne du sac d'incubation des *Cyclas* ne sont pas suivies de la division de la cellule;.... j'en conclus que cette sorte de karyokinèse multipolaire peut augmenter la complication de structure d'un noyau polymorphe en augmentant le nombre des noyaux simples qui le constituent." (1910 p. CXXIX).

Het is mogelijk, dat *Poyarkoff* gelijk heeft. Het lijkt mij onmogelijk na te gaan in welk soort cellen de abnormale deeling plaats vindt. Tegen de mogelijkheid, dat het cellen met complexe kernen zouden zijn, spreekt, dat ik dergelijke deelingen ook in den wand van jonge broedzakken, waarin nog geen complexe kernen voorkomen, heb aangetroffen.

Stauffacher heeft multipolaire mitosen eveneens bij *Sphaerium* beschreven. (1910 p. 84; fig. 70, 71, 71a, 76). Dat hij hier met zeer bijzondere cellen te doen had, schijnt hij niet te hebben ingezien. Tenminste, hij beschouwt deze multipolaire deelingen als de eerste stadia van een gewone mitose. Hij nam in deze cellen meerdere stralingsfiguren waar, die van kleine lichaampjes, welke hij als „microsomen” beschouwde, uitgingen. Gedurende het verdere verloop van de deeling zouden de vele stralingsfiguren naar twee tegenover elkaar gelegen polen trekken; de „microsomen” zouden met elkaar versmelten tot twee „centrosomen”, zoodat op deze wijze de normale mitotische deelingsfiguur zou ontstaan. Gezien het feit, dat de cellen van den broedzak zeer abnormaal zijn en *Stauffacher* als verschillende stadia van dit proces verschillende abnormale deelingsfiguren, waarschijnlijk van minder en meer samengestelde cellen, heeft beschreven, mogen wij wel aannemen dat deze multipolaire deelingen

voor de zeer afwijkende opvatting van *Stauffacher* niet de minste bewijskracht bezitten.

Mej. Schereschewsky ontkent wel niet, dat deze abnormale deelingen zouden kunnen voorkomen; zij heeft ze echter niet duidelijk kunnen waarnemen. (1911 p. 585). Volgens haar wijzen zij, als zij voorkomen, op degeneratie. Ook hiertegen is aan te voeren, dat de abnormale deelingen ook in den wand van de jonge broedzakken, waarin nog geen spoor van degeneratie te bespeuren is, voorkomen. Tenzij men de geheele ontwikkeling van de enkelvoudige tot complexe kernen als een degeneratie-proces wil beschouwen.

De derde door *Poyarkoff* beschreven mogelijkheid was:

3.) *Fusion de plusieurs noyaux*. Quelquefois des leucocytes, nettement reconnaissables à leur noyau, immigrer à l'intérieur de grosses cellules de l'assise épithéliale interne; nous verrons que ce sont des leucocytes qui remplacent les grosses cellules après leur chute en subissant certaines transformations; il est probable que le noyau des leucocytes immigrés à l'intérieur d'une grosse cellule se fusionne avec le noyau polymorphe de celle-ci. Préalablement le noyau du leucocyte s'accroît et subit certaines modifications dans son aspect." (1910 p. CXXX). *Poyarkoff* stelde zich voor, zooals wij in het volgend hoofdstuk zullen zien, dat de wand van den broedzak zou ontstaan door versmelting van leucocyten, het is dus te begrijpen, dat hij gelooft, dat met de uit leucocyten gevormde groote cellen nog meerdere leucocyten zouden kunnen versmelten. De wand ontstaat echter niet uit leucocyten, zooals ik zal aantonen, maar uit het kieuwepitheel; het is dus zaak na te gaan of bloedcellen, die den wand binnendringen, met de cellen van dien wand kunnen versmelten.

Ik heb in de binnenste laag van den broedzak slechts zelden bloedcellen waargenomen. In alle gevallen waren zij duidelijk te herkennen aan hun kernen en hun lichter gekleurd plasma. Overgangen tusschen kernen van bloedcellen en van epitheelcellen zag ik nooit. Of *Poyarkoff* ze gezien heeft, betwijfel ik.

In fig. 7 op blz. CXXX heeft hij een cel afgebeeld, waarin naast een groote complexe kern nog vier enkelvoudige voorkomen. Hij beschrijft ze als volgt: „La membrane nucléaire de ces quatre noyaux dont je parle est déjà mince, ces noyaux sont déjà pourvus de nucléoles mais ces nucléoles sont plus petits que les nucléoles du gros noyau; les grains de chromatine sont plus serrés et sont distribués plus uniformément dans ces quatre noyaux que dans le gros noyau.” De verschillen tusschen deze vier kernen en de groote zijn dus dezelfde, als die, welke ik beschreven heb tusschen de enkelvoudige en de complexe kernen. Deze vier kernen waren omgeven door een heldere ruimte, zooals deze ook de ingedrongen bloedcellen steeds omgeeft. M.i. heeft *Poyarkoff* hier een aantal cellen voor zich gehad, die aan de basis van de groote cel hebben gelegen, zooals in de praeparaten dikwijls te zien is. De grens tusschen zulke en de groote cellen is dikwijls zeer onduidelijk; het plasma, dat hen omgeeft, is lichter gekleurd dan het grofmazige van de groote cellen.

„On peut trouver tous les stades de passage entre ces noyaux et les noyaux typiques des leucocytes.” Afgebeeld heeft *Poyarkoff* deze overgangen niet; ik heb ze nooit waargenomen: de bloedcellen waren steeds duidelijk kenbaar. Ik meen dus te mogen aannemen, dat *Poyarkoff* zich hier vergist heeft en dat de bloedcellen bij het grooter worden, evenmin als bij het ontstaan van de groote kernen, een rol spelen.

Mej. Schereschewsky was tot dezelfde conclusie gekomen als ik. Zij gaf als verklaring voor *Poyarkoff's* vergissing aan: „Wahrscheinlich ist der Verfasser durch Präparate auf denen die einzelnen Lappen eines polymorphen Kernes beim Schneiden getroffen waren, irregeführt worden.” (1911 p. 688). Daarvoor liggen de kleine kernen wel wat ver van de complexe kern verwijderd. Bloedcellen heeft *Mej. Schereschewsky* ook in de groote wandcellen aangetroffen; zij beschouwt dit echter als een indringen van bloedcellen in cellen, waarvan de vitaliteit verminderd is.

Hoe zij zich dan het ontstaan van de complexe kernen heeft voorgesteld? Aan het slot van haar werk schrijft zij: „... aus

den polymorphen Kernen, welche letztere als Resultat der Verschmelzung einzelner Kerne (die ihrerseits durch Zerbröckelung eines Kernes entstanden sind) aufzufassen sind." (1911 p. 692), Dat is dus precies mijn meening. Een beschrijving van dit „Zerbröckelungs" proces heeft zij niet gegeven.

V. Het ontstaan van de broedzakken.

De weg, dien de eieren volgen om in de kieuwen te komen.

Hoe de eieren in de kiemen komen, was langen tijd onbekend, doordat men de geslachtsopening niet kon vinden.

Sphaerium is tweeslachtig. De geslachtsorganen liggen links en rechts in het achterste gedeelte van het dier en bestaan uit een aantal blaasjes, waarvan er links en rechts slechts één eieren voortbrengt, terwijl de overige spermatozoïden leveren. Alle blaasjes monden tenslotte in één uitvoergang uit, zoodat het zeer goed mogelijk is, dat de bevruchting reeds in de geslachtsorganen plaats heeft, zooals ook *Stepanoff* heeft vermoed. „Die in den Ausführungsgang hineingefallenen Eier werden von einer Menge ausgebildeter Samenfäden umgeben, sodass an dieser Stelle auch ohne Zweifel die Befruchtung stattfindet.” (1865 p. 5). Waar deze uitvoergang uitmond, bleef langen tijd een raadsel. *Stepanoff* (1865 p. 3) schreef hierover: „Was die Lage der Geschlechtsdrüsen zum Thiere selbst anbetrifft — so liegen sie mit ihren Ausführungsgängen nach hinten gerichtet. Die Stelle, an welcher letztere nach aussen münden, war mir bei der angeführten Untersuchungsmethode nicht möglich aufzufinden; — nach der Richtung ihres Verlaufes aber, der den Kiemengängen parallel ist, bin ich geneigt zu sagen, dass dieselben nach dem unteren Kiemensipho hinlaufen.” Hij liet echter de mogelijkheid open, dat zij in de gemeenschappelijke kieuwgang zouden uitmonden. In beide gevallen zouden de eieren, wanneer de waterstroom uit den uitstroomingssipho stopgezet wordt, in de binnenste kieuwen terecht kunnen komen.

Ziegler (1885 p. 563) nam de uitmonding waar, maar schijnt

zich vergist te hebben: „Von hier zieht der Kanal, ohne viel weiter zu sein als früher (Durchschnitt etwa 0.03 mm), nach hinten, erhält, wenn er dem Ausführungsgang der Niere nahe ist, ein Flimmerepithel, und mündet in das flimmernde Ende des letzteren ein.” Dit is niet juist; de uitvoergang van de geslachtsorganen en die van de nier blijven geheel van elkaar gescheiden.

Stauffacher (1894) vermeldt de ligging van de geslachtsopening ook niet. Hij beschrijft wel de vorming van het ei en de eerste klievingsstadia, die zich in de kieuwen bevinden. Over hetgeen tusschen deze beide perioden in de ontwikkeling ligt, zwijgt hij. Alleen over de plaats, waar de bevruchting plaats kan hebben, schrijft hij: „...ich neige sehr zu der Ansicht hin, dass die reifen Geschlechtsprodukte sämtlich ins umgebende Wasser entleert werden, um hier den Befruchtungsakt zu vollziehen und dann durch den Kiemensipho wieder in die einzelnen Tiere aufgenommen zu werden.” (1894 p. 210.)

Pelseneer heeft eindelijk de ligging van de geslachtsopening ontdekt. Ik wil zijn beschrijving hier nog even weergeven, aangezien ik zijn vondst in elk opzicht bevestigen kan: „La portion postérieure (femelle) de la glande est continuée en arrière par un canal hermaphrodite qui se termine à l'orifice génital; celui-ci, non reconnu jusqu'ici se trouve au dehors de la commissure viscérale auprès du point le plus ventral du rein (où est l'ouverture de celui-ci) en avant du muscle rétracteur du pied.” (1896 p. 43). (Zie fig. 14). Gaat men deze ligging met betrekking tot de kieuwen na, dan blijkt, dat de uitvoergangen van de geslachtsorganen uitmonden in de ruimte, die ontstaat door vereeniging van de beide kieuwholten. In fig. 2 is de ligging van de geslachtsopening schematisch weergegeven. Het is geen wonder, dat het zoo lang geduurd heeft, voor dat men de geslachtsopening vond: de uitvoergang is 18 μ dik en heeft een lumen van 7 μ middellijn. *Sphaerium rivicola* leeft gewoonlijk ingegraven in het slijk, zoodanig, dat alleen de in- en uitstroomingssipho er boven uitsteken. Bekijkt men nu de photo fig. I, pl. I dan blijkt, dat de eieren dus (wanneer tenminste de waterstroom, die de eieren door den

uitstroomingssipho mee naar buiten zou sleepen, ophoudt) vanzelf in de holten van de kieuwen zullen zakken. Zijn er nog geen zakken in de kieuw, dan zullen zij in het voorste deel van de kieuwholte terecht komen. Liggen er echter al, dan zullen zij achter deze komen. Ook wanneer er groote zakken aanwezig zijn, blijft er steeds tusschen deze en den bodem van de kieuwholte voldoende ruimte over voor de eieren. Tevens sluiten

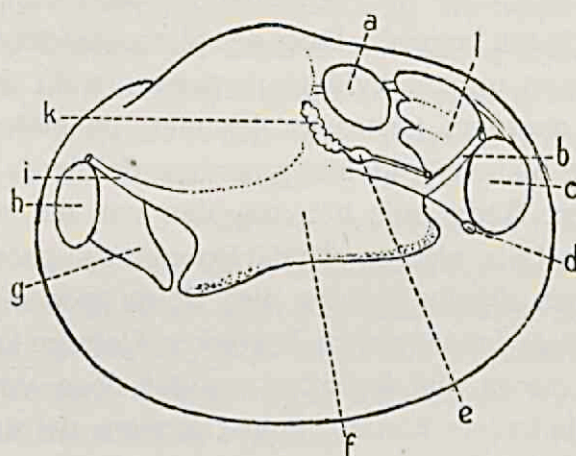


Fig. 14. Schema van *Sphaerium corneum* van links gezien, zonder den mantel en de kieuw (naar *Pelseneer* 1896 Pl. V. fig. 12). a = voorkamer van het hart, b = musculus retractor pedis posterior, c = musculus adductor posterior, d = ganglion viscerales, e = ovarium, f = voet, g = mondlap, h = musculus adductor anterior, i = musculus retractor pedis anterior, k = testis, l = nier.

deze groote zakken den weg door het bovenste deel van de kieuwholte naar voren af. Dit verklaart dus, dat men voorin steeds de oudste zakken, en, verder naar achteren gaand, jongere zakken aantreft.

Of wij ons het proces van het binnentreden van de eieren in de kieuw zoo eenvoudig mogen voorstellen, is de vraag. Mogelijk is het natuurlijk. Interessant is het echter na te gaan, hoe de eieren bij *Anodonta* in de kieuw terecht komen.

Het vraagstuk is hier iets ingewikkelder, 1e. doordat de dieren

van gescheiden geslacht zijn; 2e. doordat de oviducten in de mantelholte, tusschen de binnenste kieuw en den voet, uitmonden, terwijl de ontwikkeling van de eieren in de buitenste kieuw plaats vindt. De eieren moeten zich dus van de binnenste naar de buitenste kieuw begeven, en tegelijkertijd bevrucht worden.

v. Baer (1830 p. 313) heeft hierover zeer interessante mededeelingen gedaan. Uit de anatomie van de mossel leidde hij af, dat de eieren zich door de (gedeeltelijk open) suprabranchiale holte naar de cloaca begeven. Door de spiercontracties, die noodig zijn om de eieren uit het oviduct te persen, trekt de voet zich samen, wordt daardoor korter en breeder, en oefent dus een druk uit op de binnenste kieuw, waardoor de eieren niet in deze kunnen geraken. Gedurende het uittreden van de eieren is de schaal gesloten (alle spieren van het lichaam zijn gecontraheerd); de eieren kunnen diensgevolge niet uit de cloaca naar buiten treden. De ruimte in de cloaca is slechts klein en kan de groote hoeveelheden eieren niet bevatten, zoodat deze vanzelf in de holte van de buitenste kieuw geperst moeten worden.

Latter (1891 p. 52) heeft den weg, dien de eieren volgen, aan levende dieren kunnen nagaan en daardoor kunnen aantoonen, dat *v. Baer's* meening niet geheel juist was. Wanneer de eieren de geslachtsopening hebben verlaten, worden zij door trilharen, die in drie groepen geplaatst zijn, naar achteren bewogen, naar de cloaca. De tijd, dien het ei noodig heeft, om deze te bereiken, bedraagt slechts 50 sec. Zijn de eieren eenmaal in de cloaca aangekomen, dan worden zij door omkeering van den waterstroom in de cloaca naar de holte van de buitenste kieuw gedreven. Hoe die omkeering van den waterstroom ontstaat, heeft *Latter* niet kunnen observeeren. Hij vermoedt door een zuiging, die veroorzaakt wordt door het uiteenwijken van de schalen, terwijl de mantelholte gesloten blijft. De passage in zijn publicatie, die hierop betrekking heeft, luidt: „This suction is probably effected by relaxation of the adductors and consequent partial opening of the shell while the right and left mantle-margins are kept in contact so as to block the aperture at all other parts except the

two siphonal notches, of which the exhalant in particular remains open. The thickened margins of the mantle thus serve to temporarily close the aperture between the two valves, and, if my explanation be correct, the muscle-fibres of the mantle between the point of attachment of the mantle to the shell and its free border may tend to draw the right and left thickened borders together in the middle line, while also increasing their thickness and offering a more solid resistance to the water. Furthermore, when once the thickened borders of the mantle are in apposition and the shell commences to gape, the pressure on the right and left free borders will tend to drive them even more closely together; for the line of the mantle which is attached to the shell must of necessity follow the outward movement of the valves when gaping commences, and the free borders unite to form a bluntly pointed longitudinal ridge with divergent sides; the pressure of water falls on these divergent sides and drives them together — the whole structure thus acting in the manner of the mitral valve of the human heart." (1891 p. 53).

Misschien is de sluiting van de mantelholte, die mij eenigszins problematisch voorkomt, niet eens noodig en is het openen van de schaal voldoende, om ook door de uitstroomingsopening water naar binnen te zuigen. Het is zeer goed mogelijk, dat ook bij *Sphaerium* de eieren op deze wijze in de binnenste kieuw worden gezogen.

Bij de bespreking van het aantal broedzakken is gebleken, dat er steeds groepjes van even oude embryo's zijn. *Wasserloos* nam, om dit te verklaren, een zekere periodiciteit in het rijpen van de geslachtsproducten aan. (1911 p. 257). Dit is natuurlijk niet noodig: ook wanneer het rijpen continu plaats heeft, zullen de eieren niet voortdurend in de kieuw komen, wanneer de gunstige omstandigheden, die voor den overgang in de kieuwen noodig zijn, slechts bij tusschenpoozen bestaan.

Het ontstaan van den broedzak om het ei.

Nadat we nu den weg, waarlangs de eieren in de kieuwen terecht

komen, hebben leeren kennen, zullen wij nagaan, hoe om deze eieren een broedzak ontstaat. Het bestudeeren van de allereerste stadia van dit proces is evenwel met zeer veel moeilijkheden verbonden, waarover reeds alle vroegere onderzoekers hebben geklaagd. *Leydig* (1855 p. 61) bijv. schreef: „... bin ich nie im Stande gewesen, ein in den ersten Furchungsabschnitten begriffenes Ei zu sehen, vielmehr waren die jüngsten mir zu Gesicht gekommenen Embryonalstadien immer schon der Art, dass sie am Ende der Furchung standen.” *Stepanoff* zag jongere ontwikkelingsstadia, die reeds in zakjes waren ingesloten, waarvan hij het ontstaan zich als volgt dacht: (1865 p. 10) „Wenn die Eier nun in die inneren Kiemen resp. deren Hohlraum eingetreten sind, so legen sie sich zwischen den einzelnen Säulen der äussern Kiemenlamelle fest, um dann alsbald von den umgebenden Zellen umwuchert zu werden. Diese Umwucherung wird aller Wahrscheinlichkeit nach wie die Bildung der Bruttaschen bei *Pipa* (oder die der *Decidua reflexa*) durch die Erhebung eines Ringwulstes eingeleitet, dessen Ränder aber rasch verwachsen müssen, da es mir niemals gelang, denselben zu beobachten.” *Ziegler* (1885 p. 561) stelde het zich ongeveer op dezelfde wijze voor. Noch *Stepanoff*, noch *Ziegler* konden bewijzen dat het proces werkelijk zoo plaats heeft. Figuren van de allerjongste zakjes zijn nergens te vinden, behalve één schematische afbeelding van *Ziegler* (1885 pl. XXVII, fig. 23). Terecht schreef *Wasserloos* dan ook: „Ein direkter Beweis für diesen Bildungsmodus der Brutkapseln ist bisher nicht geführt worden.... Das Auffinden eines Stadiums, in welchem eine Brutkapsel noch nicht völlig ausgebildet ist, bleibt daher vom Zufall abhängig.” (1911 p. 255).

Een direkt bewijs kan ik evenmin geven. Het zal ook zeer moeilijk te geven zijn, want daartoe zou men den weg, dien het ei volgt, aan het levend dier moeten kunnen vervolgen. Zelfs wanneer men een ei los, d.w.z. niet in een zakje ingesloten, tusschen de interlamellaire verbindingen vond, zou men de vraag, hoe het daar gekomen is, niet kunnen beantwoorden, daar de ruimte tusschen de zakjes smaller is dan de doorsnede van het ei.

Al kan ik dus geen direkt bewijs geven, toch hoop ik met behulp van eenige afbeeldingen en foto's te kunnen aantonen, dat de manier, waarop *Stepanoff* zich het ontstaan van de zakken dacht, zeer veel waarschijnlijkheid bezit.

Wij hebben dus gezien, hoe het ei in het voorste deel van de kieuwholte terecht komt. Daar heeft *Ziegler* de volgende eigenaardigheid opgemerkt: „Man bemerkt zuweilen an den Septen ein besonders üppiges Epithel und es ist zu vermuthen, dass dieses besonders zur Bildung der Brutkapseln disponirt ist.” (1885 p. 562). Zoowel deze bijzonderheid als de mededeeling van *Ziegler* schijnen den onderzoekers, die na hem kwamen, te zijn ontgaan. Reeds wanneer men het inwendige van de kieuw bij zwakke vergrooting bekijkt, kan men waarnemen, dat de interlamellaire verbindingen, die den bodem van het voorste gedeelte van de kieuwholte vormen, dikker zijn dan die in het achterste gedeelte. Op doorsneden valt dit verschil nog veel meer in het oog. De gewone interlamellaire verbindingen bestaan uit een heel dunne cellaag met elliptische kernen, die ver uiteen liggen. In het voorste deel van de kieuw is deze cellaag dik; de kernen liggen niet verspreid, maar dicht op één gepakt; zij zijn ook niet elliptisch, maar rond. Het oppervlak is niet glad, maar gelobd, zoodat het geheel den indruk maakt van een woekering. (Zie fig. 15). Ik moet hierbij uitdrukkelijk opmerken, dat deze structuur aanwezig is, ook wanneer er geen eieren in de kieuw zijn, dat zij dus geen reactie is op de aanwezigheid van eieren. Zij komt echter niet constant bij alle dieren voor en ik heb in het al of niet aanwezig zijn geen bepaalde regelmaat kunnen vinden. In jonge dieren heb ik haar nooit aangetroffen. Misschien ontstaat zij pas, wanneer zich reeds eenige zakken in de kieuw ontwikkeld hebben. In ieder geval, wanneer zij aanwezig is, speelt zij een rol bij het ontstaan van de broedzakken.

Tusschen de gewone kernen van de verdikkingen liggen hier en daar kleinere kernen met een dikke „kernmembraan” en in het midden eenige groote chromatinekorrels. Het plasma om deze kernen is lichter gekleurd dan het gewone: de fijne structuren

die met ijzerhaematoxyline gekleurd worden en daardoor het protoplasma een grijze tint geven, ontbreken. Wij hebben hier te maken met bloedcellen, die tusschen de cellen van het subsegmentaire weefsel zijn ingedrongen. Ook op andere plaatsen komen dergelijke bloedcellen in het subsegmentaire weefsel voor; zij zijn echter nergens zoo talrijk als hier in de verdikkingen.

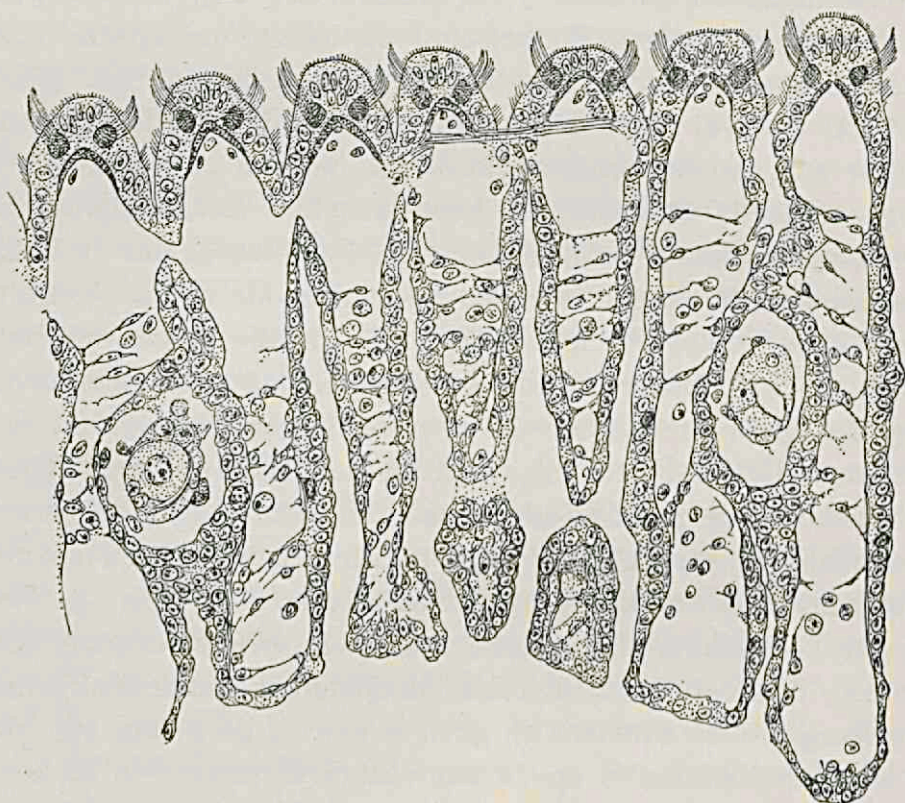


Fig. 15. Doorsnede door het onderste gedeelte van de kieuwholte. Tusschen de filamenten liggen twee embryo's, die in kleine zakjes zijn ingesloten. Het subsegmentaire weefsel is op verschillende plaatsen sterk verdikt. Vergr. 200 $\times$.

Wat er met het ei gebeurt gedurende den eersten tijd, weet ik dus niet. Opeens ligt het tusschen twee interlamellaire verbindingsen en is het omgeven door een geheel, of in een heel zeldzaam geval, door een bijna geheel gesloten zakje. Hoe is het ei, dat 50 μ middellijn heeft, daar tusschen de interlamellaire verbindingsen, die slechts 10 μ van elkaar verwijderd zijn, terechtge-

komen? Er zijn twee oplossingen denkbaar: 1e. het ei dringt actief, door vormveranderingen, tusschen de interlamellaire verbindingen; 2e. de interlamellaire verbindingen wijken, wanneer het ei ermee in aanraking komt, uiteen, zoodat het ei in de op die manier ontstane holte voldoende ruimte kan vinden. Voorloopig zal ik deze vraag onbeantwoord laten en eerst nagaan, hoe dat gesloten zakje is ontstaan.

In het normale, meest voorkomende geval bestaat de wand van het zakje uit dezelfde cellen als de verdikkingen van de gewone interlamellaire verbindingen. Zijn de beide interlamellaire verbindingen, waartusschen het ei is gelegen, niet ver van elkaar verwijderd, dan leggen zij zich rondom het ei over een korten afstand tegen elkaar en versmelten. Op deze manier is dan een gesloten zak ontstaan. (fig. 15 rechts). Is de afstand tusschen de verbindingen grooter, dan gaat het niet zoo eenvoudig. Aan beide interlamellaire verbindingen ontstaat in dit geval een ringvormige verdikking rondom de uitholling, die er tengevolge van de aanwezigheid van het ei in is ontstaan. De beide ringvormige verhoogingen versmelten met elkaar, en ook op deze wijze ontstaat een gesloten zak. (fig. 15 links). Aan de jonge zakken is deze wijze van ontstaan duidelijk te zien.

Waar komen nu echter de cellen vandaan, waaruit de verhooging ontstaat? Dat zij door deeling zouden ontstaan is onwaarschijnlijk, aangezien de tijd, die noodig is voor de vorming van een broedzakje, slechts zeer kort kan zijn, omdat: 1e. losse eieren niet tusschen de interlamellaire verbindingen zijn aan te treffen; 2e. de eieren, die zich in de jongste zakjes bevinden, pas de eerste rijpingsdeeling ondergaan. M.i. ontstaan de verhoogingen uit cellen, die door het ei uit de holte worden weggeduwd, of die zich op een of andere manier naar den rand van de holte begeven en zich zoo in den vorm van een ring rondom de uitholling ophoopen. Ik ben tot deze overtuiging gekomen door de volgende feiten: 1e. de wand van zakjes, die tusschen ver uiteen liggende interlamellaire verbindingen zijn gevormd, is steeds dunner dan de verdikte wand van de andere

interlamellaire verbindingen; 2e. deze wand kan op verschillende plaatsen zoo dun zijn, dat er geen cellen meer over zijn en zij alleen bestaat uit een soort basale membraan, die ook in de normale interlamellaire verbindingen als een dun bruin of zwart laagje onder de cellen zichtbaar is. De cellen, die op de basale membraan ontbreken, zijn m. i. gebruikt voor de vorming van de ringvormige verdikkingen, die het zakje hebben gesloten.

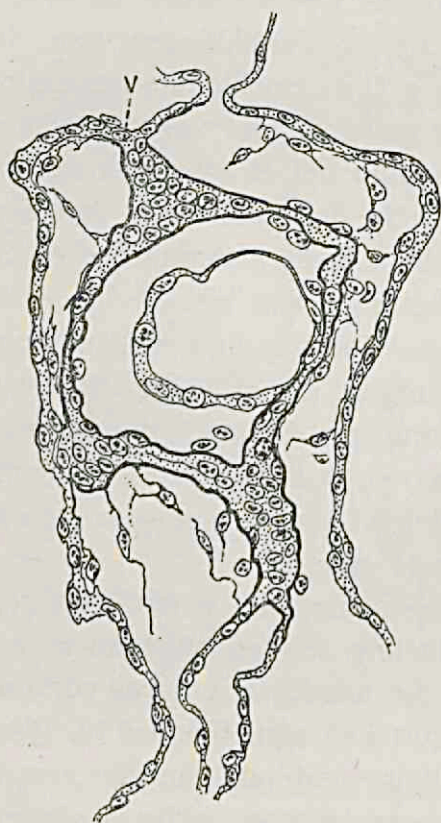


Fig. 16. Doorsnede door een zakje dat iets ouder is dan die van fig. 15 vergr. 360 $\times$.

Fig. VII Pl. II kan als bewijs voor mijn meening dienen. In het linker gedeelte van het zakje ziet men den dunnen wand, slechts uit de basale membraan bestaand. De cellen, die zich op de basale membraan moesten bevinden, liggen voor een deel over het embryo heen en brengen de verbinding met de rechter helft tot stand. Een ander deel van de cellen ligt onder het embryo opgehoopt. Ook in fig. 15, het linker zakje, is iets dergelijks te zien.

Dit is één manier, waarop de broedzakken kunnen ontstaan. Op dezelfde wijze gebeurt het, wanneer het ei iets hooger, tusschen de filamenten, terecht komt. (fig. 16).

Wanneer de verdikkingen aan de interlamellaire verbindingen ontbreken, bestaat de wand van het broedzakje bijna uitsluitend uit de basale membraan, en vrijwel alleen de verbinding tusschen de beide helften van het zakje uit cellen. Ook dit is een steun voor mijn hypothese: in dit geval toch is de voorraad cellen, die beschikbaar is voor de vorming van de verhooging aan de interlamellaire verbindingen, veel kleiner en blijven er

dus na de vorming van deze slechts weinige in den wand over.

De vorming van het zakje kan in zeldzame gevallen op principieel andere wijze plaats vinden. Daarvan toont fig. VIII Pl. II ons een voorbeeld. Zooals men ziet is het zakje aan slechts één segment bevestigd. De wand bestaat voor de helft uit een vrij dikke laag cellen, voor de andere helft uit de dunne basale membraan. Bij de samenstelling van de doorsneden, waaruit het zakje bestond, bleek mij, dat het geheel gevormd was uit de basale membraan aan de eene zijde, en de laag cellen aan de andere zijde. En aangezien het zakje niet tusschen twee vakjes is ingesloten, maar aan één vakje bevestigd is, moest ik wel tot het besluit komen, dat het ei hier tusschen de cellen en de basale membraan van het verdikte subsegmentaire weefsel is gelegen. Hoe het daar gekomen is? Ik kan er maar één verklaring voor geven, namelijk dat het ei het vermogen heeft zich tusschen andere deelen in te dringen. Gewoonlijk dringt het zich tusschen twee vakjes in; in het zoo pas beschreven geval echter drong het tusschen de cellen van het subsegmentaire weefsel in en spleet deze van de basale membraan. Hoe dit indringen van de eieren geschiedt, weet ik natuurlijk niet.

Merkwaardig is dit proces zeker in hooge mate.

Literatuur. De rol, die de bloedcellen bij het ontstaan van de broedzakken spelen.

Zooals men opgemerkt zal hebben, komt mijn meening principieel overeen met de wijze, waarop *Stepanoff* (1865 p. 10) zich het ontstaan dacht. Een volmaakt andere opvatting heeft *Poyarkoff* (1910 p. CXXXV) verdedigd. Hij had waargenomen, dat een groot aantal embryo's in de mantelholte terecht waren gekomen. (Hetgeen natuurlijk mogelijk is, want eieren, die het dier door den uitstroomingssipho verlaten, kunnen door den instroomingssipho weer worden opgenomen). Deze eieren waren met den lichaamswand in aanraking gekomen, waarop een stroomen van leucocyten naar deze plaats was gevolgd.

„Ces embryons touchaient la paroi du corps en un point quelconque et provoquaient l'afflux des leucocytes. Ce sont d'abord

un petit nombre de leucocytes qui entourent l'embryon en s'étalant à sa surface en une mince couche cytoplasmique;" (Hoe die leucocyten ineens buiten het lichaam komen beschrijft *Poyarkoff* niet). Hieruit concludeert *Poyarkoff*: „Par analogie, je suppose que lorsque l'embryon vient au contact des filaments branchiaux ce sont surtout les leucocytes qui émigrent au dehors et englobent l'embryon; plus tard ils s'organisent en deux assises épithéliales du sac d'incubation. Quant aux cellules épithéliales ectodermiques des filaments branchiaux si elles prennent part à cet englobement, leur rôle n'est probablement pas considérable." (1910 p. CXXXIV). Dat *Poyarkoff* zich vergist moet hebben is, na wat ik over het ontstaan van de zakken heb medegedeeld, natuurlijk duidelijk. Dat embryo's, die met den lichaamswand in aanraking komen, door uittredende bloedcellen worden omgeven, is zeer goed mogelijk; hoe kwam *Poyarkoff* er echter toe te denken, dat uit zulke bloedcellen de wand van den broedzak zou ontstaan? Dit vindt voornamelijk zijn oorzaak in het feit, dat hij, zooals in het vorige hoofdstuk werd besproken, bloedcellen waarnam in den wand van de oudere zakken en meende, dat de cellen een rol speelden bij het ontstaan van de complexe kernen.

Al vormen de bloedcellen dus den wand niet, toch spelen zij bij het eerste ontstaan van de broedzakjes een rol. In de jonge zakjes is het ei omgeven door een aantal cellen, die aan den vorm van hun kernen als bloedcellen te herkennen zijn. Soms vormen zij om het ei een dunnen wand (fig. 17), in andere gevallen liggen zij in groepjes bij elkaar. Hun aantal kan vrij groot zijn; ik telde er 184 in één zakje, zelfs 194 in een zakje met twee eieren. In de allerjongste stadia, die ik bezit, ontbreken deze bloedcellen, zoodat het onwaarschijnlijk is, dat het ei, omgeven door de bloedcellen, in de kieuw komt. Zij moeten dus wel uit de deelen, die het ei omgeven, afkomstig zijn. Nu hebben wij vroeger (blz. 59) gezien, dat in de verdikte interlamellaire verbindingen talrijke bloedcellen voorkomen. In den wand van de jonge broedzakken ontbreken zij bijna geheel; in den wand van het hierboven vermelde zakje kwamen er slechts 4 voor,

tegen 194 in de holte. Het ligt dus voor de hand, dat de bloedcellen in het zakje voor een deel uit den wand afkomstig zijn. Voor een deel, want in het zakje bevinden zich meer bloedcellen,

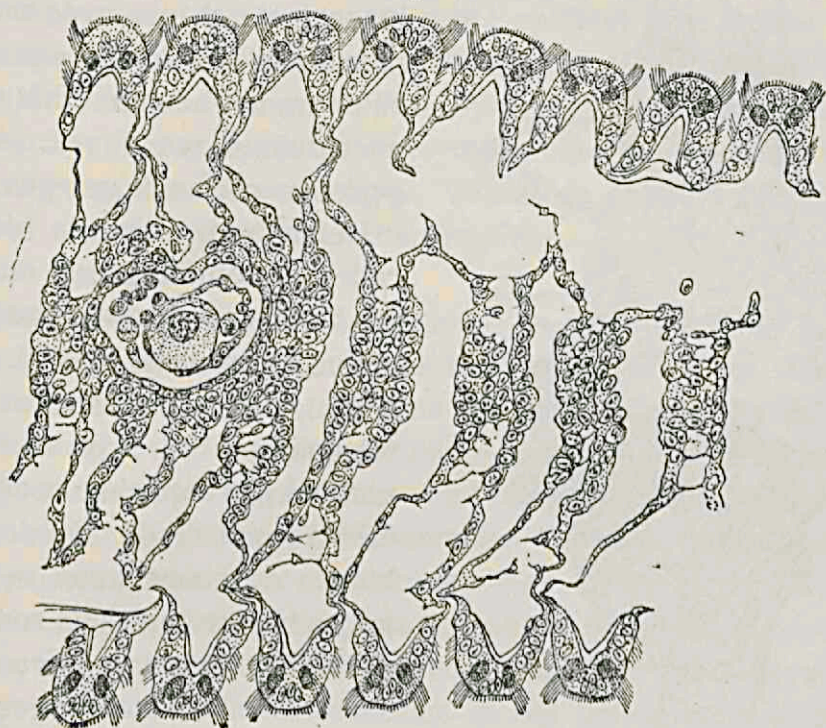


Fig. 17a. Zakje met jong embryo. 200 X.

dan er zich normaal in een deel van de interlamellaire verbindingen, even groot als de wand van het zakje, bevinden. De rest moet wel direct uit het bloed afkomstig en door den wand heengedrongen zijn.

Dat er werkelijk een uittreden van bloedcellen plaats vindt, bewijzen fig. 18a. en b. en fig. IX, Pl. II, tekeningen en een microphoto naar hetzelfde praeparaat. Zij stellen een doorsnede door het bovenste deel van een zakje voor. In het zakje liggen eenige bloedcellen, kenbaar aan hun donker gekleurde kernen.

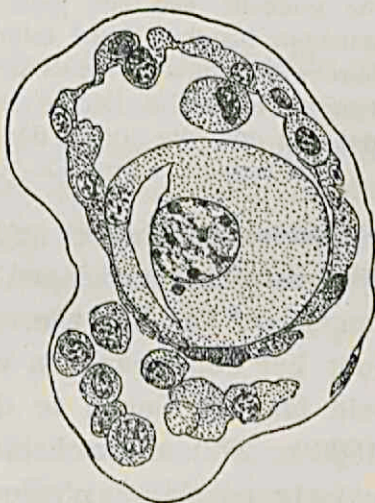


Fig. 17b. Het embryo, sterker vergroot. In het broedzakje bevinden zich een aantal bloedcellen. 640 X.

Eén ervan ligt wel is waar voor het grootste deel in de holte van het zakje, is echter toch nog door een dunnen uitlooper met

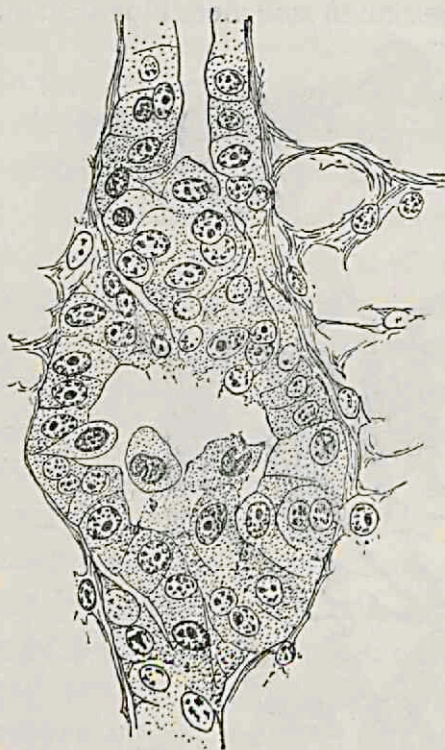


Fig. 18a. Doorsnede door het bovenste gedeelte van een jong zakje, ontstaan tusschen twee interlamellaire verbindingen. In het zakje liggen eenige bloedcellen. Eén ervan is met een dun gedeelte nog in den wand bevestigd. Vergr. 500 $\times$.

den wand verbonden. Deze uitlooper laat zich tot aan de basale membraan vervolgen, aan één zijde ervan bevindt zich een open ruimte, waarin m.i. de uitgetreden cel heeft gelegen.

Het uittreden van de bloedcellen is natuurlijk een reactie op het binnendringen van een vreemd voorwerp: het ei. Het schijnt, dat de bloedcellen ook werkelijk probeeren dit vreemde voorwerp te vernielen: in eenige eieren vond ik de bloedcellen binnen de eimembraan, zelfs in het ei. Het protoplasma rondom de bloedcellen was gevacuoliseerd, de eikern sterk opgezwollen, met 6 à

7 groote nucleolen. Nu behoeven deze degeneratiever-

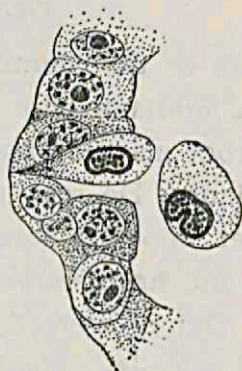


Fig. 18b. De uittredende bloedcel met een deel van den wand sterker vergroot geteekend. Vergr. 1000 $\times$.

schijnselen van het ei nog niet het gevolg te zijn van het binnendringen van de bloedcellen; omgekeerd kan het zijn, dat de bloedcellen door het abnormaal-zijn van het ei gelegenheid hadden binnen te dringen. *De Bruyne* (1898 p. 272) onderscheidde de cellen in het jonge broedzakje als phagocyten en leucocyten. De phagocyten zijn de cellen met excretorische functie, die overal het kieuwepitheel door-

dringen om afvalstoffen naar buiten te brengen en nu toevallig in het broedzakje terecht zijn gekomen. De leucocyten zijn gewone bloedcellen, die, reageerend op de aanraking van de kieuw door een vreemd voorwerp, door het epitheel naar buiten zijn gedrongen. Bij *Anodonta* gebeurt hetzelfde. Hier nam *de Bruyne* hetzelfde waar, wat ik zooeven voor *Sphaerium* heb beschreven: in sommige eieren en jonge embryo's dringen bloedcellen binnen en probeeren hen te vernietigen. Vooral de onbevuchte eieren worden door de bloedcellen aangevallen.

Rijpingsdeeling van het ei. Uitstooten van den nucleolus.

De eieren in de jongste zakjes bevinden zich in het stadium van de eerste rijpingsdeeling. Van de vorming van het eerste poollichaampje bezit ik verschillende stadia. (fig. X en XI Pl. II). Het poollichaampje deelt zich nog eenmaal, zoodat er twee naast elkaar liggende poollichaampjes ontstaan. Een tweede rijpingsdeeling heb ik nooit waargenomen. In de eieren, die de eerste rijpingsdeeling ondergaan, is ook de ingedrongen spermatozoïde waar te nemen aan de tegenoverliggende pool. Rondom de spermatozoïde is een straling in het protoplasma te zien. Van de versmelting van eikern en spermatozoïde bezit ik helaas geen praeparaten.

In de jongste eieren bevindt zich ook nog een zwart gekleurd, bolvormig lichaam. *Obst* (1899 p. 161), die hetzelfde bij verschillende Mollusken heeft waargenomen, toonde aan, dat dit lichaam de nucleolus van de eikern is, die vóór de bevruchting uit de kern wordt verwijderd. Bij *Sphaerium* (door *Obst* niet onderzocht) treden er vacuolen in op en in de eerste klievingsstadia is deze uitgestooten nucleolus verdwenen.

Groei van den broedzak.

Is het zakje eenmaal gesloten, dan treden er vele kerndeelingen in den wand op, die in de eerste plaats den groei van het zakje tengevolge hebben, terwijl bovendien de leege plekken in den wand weer worden aangevuld. Het embryo neemt voorloopig

nog niet veel in volume toe, zoodat er in het zakje een vrij groote ruimte overblijft. Weldra beginnen in een deel van de cellen van den wand die processen, welke zich ook nog in den wand van de oudere zakken afspelen, en die tot de vorming van de groote cellen met de complexe kernen leiden.

In een deel van de cellen ontstaan dus door knopvorming vele kernen, die met elkaar versmelten en zoo een complexe kern vormen, waarna het protoplasma de op blz. 44 beschreven veranderingen ondergaat. Bij deze veranderingen neemt de inhoud van de cel sterk toe, zoodat het ontstaan van de groote cellen een groei van den zak tengevolge heeft. De rest van de cellen blijft onveranderd, gaat zich deelen en vormt zoo cellen, die de verbruikte kunnen vervangen.

Ook heeft de groei plaats, doordat de wand dunner en daardoor wijder wordt. Zoo ontstaan de dunne deelen, die nauwelijks te onderscheiden zijn van de buitenste laag van den wand.

Ontstaan van de buitenste laag van den wand van den broedzak.

Over het ontstaan van de buitenste laag valt niet veel te zeggen. Zij ontstaat uit de beide van elkaar afgekeerde, wat bouw betreft zoo goed als niet veranderende deelen van de interlamellaire verbindingen, waartusschen het ei is gelegen. (fig. 16). De vermenigvuldiging van de kernen in deze buitenste laag schijnt ook door insnoering plaats te hebben, zooals ik in totaal-paeparaaten heb waargenomen; een enkele maal komt ook mitose voor. Een gevolg van de wijze van ontstaan van de broedzakken is dat, zooals op blz. 40 reeds werd vermeld, binnenste en buitenste laag van den wand volgens een lijn, die over den geheelen omtrek van den broedzak loopt, met elkaar verbonden blijven (fig. 16 v.).

VI. De voeding van de embryo's.

De voedingsstoffen, die de embryo's voor hun groei nodig hebben, kunnen hun slechts op één manier worden toegevoerd, nl. door den wand van de broedzakken. Over de wijze, waarop die toevoer geschiedt, loopen de meeningen weer uiteen.

Literatuur.

Leydig (1885 p. 60) meende reeds, dat de heldere vloeistof, die zich in de zakken bevindt, door de cellen van den wand wordt afgescheiden (zie aanhaling op blz. 39) Waarvoor die vloeistof dient, liet hij buiten beschouwing. Dat de vloeistof door den wand van den broedzak zou worden afgescheiden, is een opvatting, die men bij geen van de latere onderzoekers terugvindt. Zij hebben alleen gekeken naar de gevormde bestanddeelen, die in de vloeistof voorkomen en door het embryo worden opgenomen, zonder de samenstelling van de vloeistof na te gaan, om op die manier te onderzoeken, of er stoffen in opgelost zijn, die als voedsel kunnen dienen. (Alleen *Mej. Schereschewsky* heeft opgemerkt, dat in sommige praeparaten in den broedzak een fijnkorrelig, acidophiel neerslag voorkwam. [1911 p. 681.] In enkele gevallen heb ik hetzelfde waargenomen. Dit neerslag vertoonde zeer veel overeenkomst met het neerslag, dat men soms in de bloedlacunen vindt¹⁾. Na de bespreking van de literatuur kom ik hier uitvoeriger op terug.

Stepanoff (1865 p. 31) heeft het eigenlijke vraagstuk van de voeding het eerst besproken. In de maag van levende embryo's

¹⁾ Van verwarring met eiwit-glycerine kan hier geen sprake zijn, aangezien ik bij het opplakken gedest. water gebruikte.

zag hij een aantal cellen, die overeenkwamen met de cellen van den wand; soms vulden zij als een prop de mondopening ¹⁾.

Ziegler (1885 p. 562) sloot zich bij *Stepanoff* aan.

De Bruyne (1898 p. 275) schreef van hen beide: „les conclusions de ces deux importants travaux sont en faveur d'une nutrition exclusive aux dépens de produits sécrétés par les cellules épithéliales”. Het is eenigszins misleidend in dit geval, waar geheele cellen van den wand zouden loslaten, te spreken van „produits sécrétés”. Mag men dit nog secretie noemen?

De Bruyne bevestigt wat *Stepanoff* en *Ziegler* over de voeding hebben medegedeeld. Behalve de cellen, die van den wand loslaten, bezitten de embryo's nog een andere bron van voedsel in de leucocyten en phagocyten, (cellen met excretorische functie, zie blz. 66), die den jongen broedzak zijn binnen gedrongen en nu door de embryo's in het darmkanaal worden opgenomen. Dan is er nog een derde mogelijkheid, waarvoor hij bij *Sphaerium* geen bewijzen heeft gevonden. Wél bij *Anodonta*, waar de blastomeren zich door middel van protoplasma-uitloopers probeerden meester te maken van de bloedcellen, die het embryo omgeven. De embryo's, die nog geen darmkanaal bezitten, zouden eventueel nog op een vierde manier voedsel toegevoerd kunnen krijgen: een deel van de bloedcellen in den broedzak degenereert en de stoffen, die daarbij ontstaan, zouden in de embryo's kunnen diffundeeren en dezen als voedsel dienen.

Poyarkoff is het weer met *Stepanoff* eens. (1910 p. CXXXIII). Al deze bijdragen hebben betrekkelijk weinig waarde; zij zijn vaag en nòch door afbeeldingen, nòch door uitvoerige beschrijvingen bewijzend.

Alleen het werk van *Mej. Schereschewsky* maakt hierop een uitzondering. Losse cellen komen volgens haar in de broedzakken niet voor: zij kan er dan ook onmogelijk een „ständigen

¹⁾ *Stepanoff* vergeleek *Sphaerium* met de overige *Lamellibr.*: „Die Cycladen verhalten sich in dieser Hinsicht abweichend von den übrigen Lamellibranchiaten, die während des Aufenthaltes in den Kiemen ihrer Mutter sämtlich ihre Eihüllen behalten und sich von dem darin befindenden Eiweiss ernähren.” Dit is niet juist. (Zie *Latter* 1891 p. 54).

Nahrungsstoff" in zien. Als zoodanig beschouwt zij uitsluitend een fijnkorrelige massa, die in een deel van de cellen van den wand ontstaat uit de groote nucleolen van de complexe kernen. Dezelfde massa komt ook in de zakken voor.

Wasserloos (1911 p. 257) tenslotte: „Meine Schnittserien zeigten in der Tat im Vorderdarm und im Magen und zwischen den Mundlappen zahlreiche Zellen; da dieselben zum Teil ¹⁾ deutliche Kernkonglomerate aufwiesen, so konnte an ihrer Identität mit abgelösten Brutkapselzellen wohl kaum gezweifelt werden." Hoe de cellen zonder duidelijke kernconglomeraten er uit zagen, schijnt hem niet te hebben geïnteresseerd. Belangrijker is dat *Wasserloos* schrijft: „Schnitte durch alle Stadien von Brutkapseln zeigten mir, das nicht immer ganze Zellen sich ablösen, sondern manche Zellen völlig zerfallen oder nur ein Teil des Protoplasmas der Zellen sich abspaltet." Dat zou dus een compromis beteekenen tusschen de theorie van *Stepanoff* en die van *Mej. Schereschewsky*.

Wat *Wasserloos* hieraan toevoegt is niet juist. „Im letzteren Falle legen sich die zurückbleibenden Kerne denjenigen einer Nachbarzelle an. Daraus erklären sich die bereits mehrfach erwähnten Kernkonglomerate." Wanneer dit zelfs een enkele keer mocht gebeuren, dan is het toch zeker niet de meest voorkomende manier, waarop de complexe kernen ontstaan. Ik betwijfel intusschen ten zeerste, of het werkelijk voorkomt. Veel waarschijnlijker is, dat *Wasserloos* hier slechts een deel van het degeneratieproces heeft waargenomen en dat na eenigen tijd ook de resten van de cellen met de kernen, die er zich nog in bevonden, te gronde zouden zijn gegaan, in plaats van met andere kernen te versmelten en op die manier kernconglomeraten te vormen. Aan de basis van de groote cellen liggen gewoonlijk meerdere kleinere, waarvan *Wasserloos* waarschijnlijk heeft aangenomen, dat zij met de achterblijvende kernen zouden kunnen versmelten.

Al deze opgaven uit de literatuur resumeerend, kunnen wij dus

¹⁾ Spatiëring van mij. J. G.

zeggen, dat de volgende manieren van voeding zijn beschreven:

1e. Het voedsel bestaat uit cellen, die van den wand van den broedzak loslaten.

2e. Naast deze cellen worden ook bloedcellen, die den zak zijn binnengedrongen, opgenomen: *a.* zij degenereeren en de stoffen, die daarbij ontstaan, diffundeeren in het embryo; *b.* zij worden door de cellen van het embryo gefagocyteerd: *c.* zij worden door het embryo in het darmkanaal opgenomen.

3e. De wand van den broedzak scheidt de voedingsstoffen af.

4e. Sommige cellen van den wand laten los en worden in hun geheel door de embryo's opgenomen; andere degenereeren geheel of gedeeltelijk, en de stoffen, die daarbij ontstaan, kunnen als voedsel worden gebruikt.

Eigen waarnemingen.

Het merkwaardige is, dat voor al deze mogelijkheden in de praeparaten bewijzen zijn te vinden, behalve voor de onder 2*b.* genoemde, waaruit men zou kunnen besluiten, dat het voedsel op vier verschillende manieren kan worden gevormd.

In de eerste plaats vindt men de cellen, die van den wand hebben losgelaten. In zakken van een bepaalden ouderdom (nl. zulke met embryo's van 1—1½ mm) zijn zij geregeld aan te treffen. Het zijn ronde cellen, 15—25 μ groot, met een kern, die volmaakt overeenkomt met die van de wandcellen. In het protoplasma zijn groote holten; het vertoont soms verschijnselen van degeneratie. De kernen zijn niet gaaf; de grens tusschen plasma en kern is dikwijls onduidelijk. De cellen zijn gedeeltelijk begrensd door een dichtere laag, die, wat structuur betreft, overeenkomt met den „cuticularen zoom.” In de maag van de embryo's komen dezelfde cellen voor, evenals in het stomodaeum. Niet zoo nu en dan eens, maar bijna altijd. Fig. 19 toont het stomodaeum van een jong embryo, waar een aantal cellen, die voor een deel tot de zooeven beschreven soort behooren, voor liggen. Wanneer men dit ziet, is het te begrijpen, dat *Stepanoff* schreef: „man sieht sie auch fast immer wie einen Propf die klaffende Mundöffnung

ausfüllen und nach aussen über dieselbe hervorragen." (1865 p. 31). Is er ook in den wand van den zak iets van het loslaten van de cellen te bemerken? In sommige praeparaten is het zeer duidelijk. De cellen puilen dan sterk uit, zoo zelfs, dat het in enkele doorsneden van een serie lijkt, of men met vrije cellen te maken heeft, terwijl dan in andere blijkt, dat zij toch nog met den wand samenhangen. Aangezien dergelijke cellen zoo geregeld in de broedzakken voorkomen en door de embryo's worden opgenomen, meen ik ze als voedsel te mogen beschouwen.

In zakken, die ouder of jonger zijn dan deze, wordt dit soort van cellen zeldzaam. In jongere zakken komen wel losse cellen voor, die er anders uitzien. Zij zijn kleiner; het protoplasma is gewoon; de kern donker gekleurd, pyknotisch. Ook deze worden door de embryo's in het darmkanaal opgenomen. Oorspronke-

lijk kon ik hun herkomst niet ontdekken, tot ik in meerdere zakjes alle overgangen tusschen gewone bloedcellen en dit soort van cellen vond. Hiermee werd tegelijkertijd een ander raadsel opgelost, nl. wat er met de bloedcellen gebeurt, die een jongen zak zijn binnengedrongen en waarvan in oudere zakken geen spoor meer te vinden is. Zij degenereren dus, en worden dan opgenomen, zooals ook *de Bruyne* had beschreven. In fig. 20 zijn enkele cellen van deze soort afgebeeld.

Het is mij dikwijls opgevallen, dat tusschen de normale cellen van het embryo geheel afwijkend gevormde voorkomen.

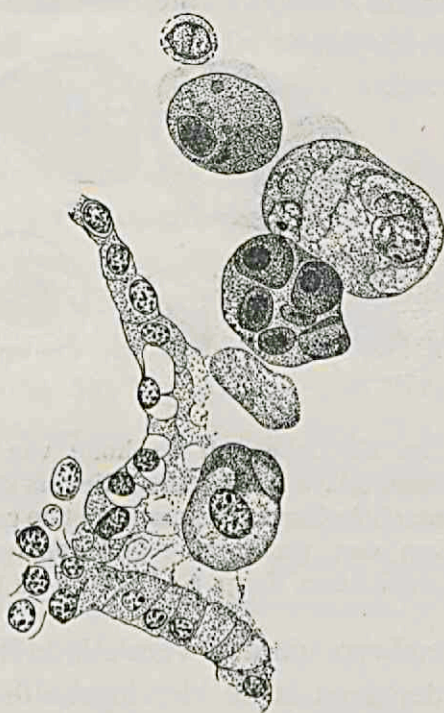


Fig. 19. Voor den mond van een jong embryo liggen een aantal cellen, die waarschijnlijk uit den broedzak hebben losgelaten. In een deel van deze cellen zijn bloedcellen ingedrongen. Vergr. 500 $\times$.

Eerst heb ik gedacht, dat het gedegenerateerde cellen van het embryo waren. Nadat ik de vervallen bloedcellen in de broedruimte had leeren kennen, begreep ik, dat de afwijkende cellen in de embryo's, die, wat structuur betreft, volkomen met deze

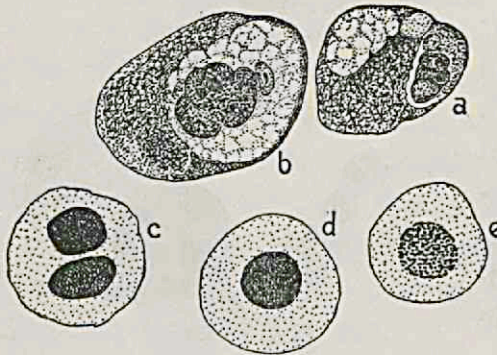


Fig. 20. Cellen uit de holte van een broedzak. a en b cellen, die wat structuur betreft overeenkomen met de cellen van den wand; c—e gedegenerateerde bloedcellen. Vergr. a en b 500, c—e 1200.

overeenstemmen, eveneens als gedegenerateerde bloedcellen moeten worden beschouwd. Over het tijdstip, waarop zij het ei of het embryo zijn binnengedrongen, kan ik niets met zekerheid zeggen. Op blz. 66 beschreef ik, hoe de bloedcellen in de eieren kunnen indringen. Het leek mij toe, dat deze daaraan te gronde kunnen gaan. Weerstaan zij den aanval van de bloedcellen, dan zullen de laatste door de cellen van het

embryo worden vernietigd. Heeft het ei zich eenige malen gedeeld en is de klievingsholte ontstaan, dan wordt het voor de bloedcellen gemakkelijker het embryo binnen te dringen, ook dan schijnen zij echter tenslotte te degenereren. In alle gevallen zullen de stoffen, die bij het degeneratieproces ontstaan, aan het embryo ten goede kunnen komen.

Zoo komen we tot de derde mogelijkheid: dat de wand van de broedzakken een klierepitheel zou kunnen zijn, dat de voedingsstoffen afscheidt. Inderdaad doet de structuur van den wand daar onmiddellijk aan denken. De groote nucleoli, de merkwaardige kernen, het grofmazige plasma en de kleurloze substantie, die er zich in bevindt, alles wijst op secretie.

Mej. Schereschewsky (1911 p. 686) heeft het secretieproces als volgt beschreven: „Im distalen Teil dieser Zellen sind zwei verschiedene Regionen zu unterscheiden. — Die eine ist die der acidophilen Granula (man könnte sie eigentlich Secretgranula

nennen), welke, wenn nicht ausschliesslich, so doch zum grössten Teil aus den einer Umwandlung anheimgefallenen Nucleolen entstanden sind. Die andere Region liegt dem Stäbchensaum unmittelbar an; in ihr finden wir eine Substanz angehäuft, in der Schichten auftreten und die sich sowohl mit Delafields-Haematoxylin als auch mit Lichtgrün färbt. Diese Substanz halte ich für das fertige Secret.

Die osmierten Präparate zeigen uns, dass einige Chromatinkörner bereits im Kern gewissen Umwandlungen anheimfallen. Das Schwarzwerden bei Einwirkung von Osmiumsäure einiger Körner, meiner Meinung nach Chromatinkörner, das innerhalb des Kernes und auch im Protoplasma an der Zellbasis zu beobachten ist, muss als eine Umwandlungsstufe des zur Bildung des Secrets dienenden Chromatins gedeutet werden." Volgens *Mej. Schereschewsky* zou het secret dus ontstaan uit nucleoli en chromatinekorrels. Nu kan het mijn taak niet zijn over dit secretieproces te discuteeren, daar ik mij hier op histologisch gebied bevind. Alleen wil het mij voorkomen, dat, wat *Mej. Schereschewsky* als secretie beschrijft, eigenlijk geen secretie is.

Wat *Mej. Schereschewsky* beschrijft, heb ik meer dan eens kunnen waarnemen, vooral in de groote cellen van het steelgedeelte van de groote broedzakken. De grenzen tusschen kern en protoplasma zijn op verschillende plaatsen verdwenen. De chromatinekorrels hebben hun kleur verloren, zoodat de kern zeer bleek gekleurd is. In een deel van de nucleoli zijn aan den rand lichter gekleurde gedeelten ontstaan; sommige zijn ook in het protoplasma terecht gekomen. Vooral nu hoopt zich in het protoplasma de homogene substantie op, waarvan al eenige malen sprake

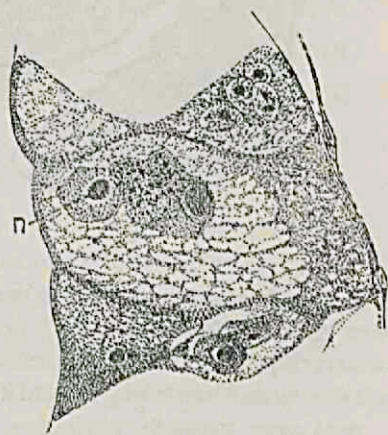


Fig. 21. Groote cel uit den wand van een broedzak. Bij n een nucleolus, die in het protoplasma ligt en door een homogene massa is omgeven. Vergr. 700 $\times$.

was; het deel van de cel dat aan de broedruimte grenst, is er dicht mee gevuld. De nucleoli die in het plasma zijn komen te liggen, veranderen ook in diezelfde substantie; in fig. 21 is een cel afgebeeld, waarin een nucleolus omgeven is door een ring van de, in het praeparaat met pikrinezuur geel gekleurde substantie. Tenslotte verdwijnt de zoom, die den inhoud van de cel van de omgeving scheidt, en kan de geheele inhoud van de cel naar buiten treden. Dat dit zoo is, blijkt daaruit, dat in het fijnkorrelig neerslag, hetwelk zich op verschillende plaat-

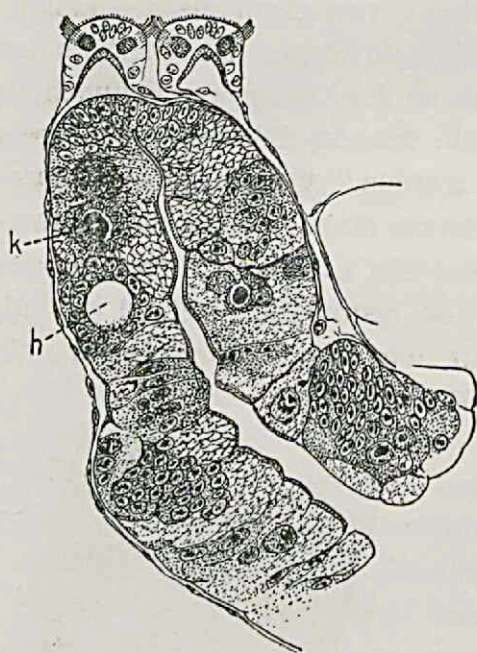


Fig. 22. Doorsnede door den wand van een grooten broedzak. Bij h een holte, waarschijnlijk ontstaan, doordat een cel uit den wand heeft losgelaten. k = kern met zeer grooten nucleolus. (9 μ)

is, doordat een cel uit den wand is getreden, waarna de omringende cellen het gat hebben gesloten.

De stoffen die op deze wijze in den broedzak komen, worden door het embryo ook opgenomen, zooals een onderzoek van den darminhoud leert. *Wasserloos* schijnt dus twee verschillende dingen te hebben waargenomen: 1e. het loslaten van de cellen;

sen in de groote zakken bevindt, de resten van de ker-
nen en ook geheele nucleolen
zijn te onderscheiden. Uit dit
alles blijkt, dat de groote cel-
len van den wand een dege-
neratie-proces ondergaan en
tenslotte uit den wand los-
laten. In fig. 22 is een deel
van den wand van een broed-
zak afgebeeld, waarin een
holte voorkomt, die omgeven
is door een laag kleine cellen.
In het praeparaat (in de figuur
niet geteekend) zijn de sporen
van een kanaal zichtbaar, dat
deze holte met de ruimte van
den broedzak verbindt of ver-
bonden heeft. Het komt mij
voor, dat de holte ontstaan

2e. het degenerereeren van cellen die daarna uiteenvallen. Dat een deel van de cel met de kern zou achterblijven en met andere kernen zou kunnen versmelten, acht ik uitgesloten; daarvoor is de kern bij het uiteenvallen van de cel te veel veranderd.

Het is m.i. zeer wel mogelijk, dat de cellen van den wand een stof afscheiden, die in praeparaten niet zichtbaar is. Daarop schijnt mij te wijzen het groote aantal en de grootte van de nucleoli, alsmede het feit, dat het protoplasma een tijdlang zoo sterk gekleurd wordt door ijzerhaematoxyline. Bovendien is te bedenken, dat de inhoud van den broedzak steeds groter wordt en de ruimte erin moet worden aangevuld met een vloeistof, die alleen uit het bloed afkomstig kan zijn, aangezien de broedzak geheel door een met bloed gevulde holte is omgeven. Mogelijk is, dat door de cellen van den wand water uit het bloed wordt opgenomen en dat dit water met stoffen, die in de cellen werden gevormd, weer aan den broedzak wordt afgegeven. Dat de cel stoffen uit het bloed opneemt en deze verwerkt, is niet noodig; het opnemen van stoffen uit het bloed geschiedt waarschijnlijk gedurende den groei van de cellen en vooral van hun kernen. De in den broedzak te brengen stoffen kunnen in de cellen ontstaan als product van omzettingen in het protoplasma en de kern, welke omzettingen tenslotte tot het verval van de cel leiden. *Prof. Jordan* wees er mij op, dat dit vraagstuk op te lossen zou zijn door de dieren te injecteeren met ijzeroplossingen of door ze gedurende eenigen tijd in ijzeroplossingen te plaatsen. Of deze methode tot resultaten zou kunnen leiden, weet ik niet; het is de vraag of de ijzerverbindingen uit het bloed door de cellen worden opgenomen. Wegens gebrek aan tijd ben ik nog niet in de gelegenheid geweest deze proeven uit te voeren.

Hoewel voortdurend cellen uit den wand loslaten, wordt deze niet dunner. Waar komen de cellen vandaan, die de losgelaten cellen vervangen? M. i. ontstaan de nieuwe cellen uit de groepen van kleine cellen, die wij overal tusschen de groote in vinden. Zij schijnen de eigenschappen van gewone cellen te hebben behouden,

kunnen zich o. a. mitotisch deelen. Het veranderen van deze cellen in de groote cellen met complexe kernen heeft tevens een grooter worden van den zak tengevolge.

Er schijnt echter een tijd te komen, dat de groei van den zak niet meer gelijken tred kan houden met dien van het embryo. De zak wordt te klein en sluit zeer eng om het embryo heen; de wand is zeer dun geworden. Nu komt waarschijnlijk het oogenblik, dat de zak openscheurt en het embryo vrij in de kieuwholte komt te liggen. Wat er met de resten van den zak gebeurt, weet ik niet. *Stepanoff* (1865 p. 13) heeft deze nog in de kieuwen gevonden: „Nachdem nun der Embryo seine Bruttasche verlassen hat, stellt diese letztere einen Haufen von grossen Zellen dar, der verschiedene Formen annehmen kann. Sehr oft sieht man denselben an der Basis der inneren Kiemenlamelle lappig verästelt in allen Richtungen sich ausbreiten (solche Bildungen denn auch von *Carus* als Verästelungen des Eierstockes abgebildet wurden). Nach und nach aber werden diese Zellenhaufen resorbirt, ohne eine Spur von ihrer Existenz zu hinterlassen.“

Van den eigenlijken zak heb ik nooit iets teruggevonden; misschien worden de resten door het embryo opgenomen. Het dikkere steelgedeelte blijft echter nog geruimen tijd in de kieuw achter en is in het voorste deel van de kieuwholte als een aanhangsel van de kieuwfilamenten te zien. Op doorsneden vertoont het nog dezelfde structuur als de intacte broedzak. In groote dieren kon ik meerdere van deze stelen waarnemen, waaruit ik kon besluiten, dat hier reeds meerdere embryo's de zakken hadden verlaten. Veel konden het er niet geweest zijn, want de zakken, waarin zich nog embryo's bevonden, waren niet zoo heel ver naar achteren vastgehecht. Ook hieruit meen ik te mogen besluiten, dat de ontwikkeling van de embryo's vrij lang duurt, aangezien *Sphaerium* eenige jaren kan leven (zie *Korschelt Lebensdauer, Altern und Tod*. 2de druk, p. 35, 1922).

Hoe de jonge dieren de kieuwen verlaten, heb ik niet kunnen

observeeren. Ook in de literatuur zijn geen opgaven te vinden. Er is maar één weg: door de gemeenschappelijke holte van de binnenste kieuwen en dan door den uitstroomingssipho. Deze moet daartoe zeer rekbaar zijn; de mosseltjes hebben, als zij de kieuw verlaten, een hoogte van 4 à 4,5 mm. Misschien kunnen de jongen met behulp van hun voet uit de kieuw kruipen; ik zie niet in, hoe zij er anders uit zouden kunnen komen.

Nu wij het ontstaan van de broedzakken en de voeding van de embryo's hebben leeren kennen, kunnen wij ons afvragen, hoe wij het verblijf van de embryo's in de kieuwen moeten beschouwen: als een werkelijke „Brutpflege” of als een soort parasitisme. *Faussek* heeft met anderen de stelling verdedigd, dat elk geval van vivipariteit parasitisme zou zijn. In zijn artikel „Viviparität und Parasitismus” (1904 p. 762) schreef hij: „Die Viviparität und die damit zusammenhängende Ernährung des Embryos auf Kosten des mütterlichen Organismus kann auf eine weitere biologische Erscheinung zurückgeführt werden, auf Parasitismus. Es ist ein spezieller Fall vom Parasitismus, ein zeitweiliger Parasitismus der folgenden Generation einer Art auf der vorhergehenden. Die verschiedenen morphologischen Veränderungen, die bei den lebendig gebärenden Organismen zum Zwecke der Ernährung des Embryos auftreten, können von diesem Standpunkte aus leicht erklärt werden. In jedem einzelnen Falle erscheint als ihre Ursache der Embryo selbst; ihm gehört die Initiative, die aktive Rolle in der Ausarbeitung dieser Anpassungen, und der mütterliche Organismus fügt sich ihm passiv, auf ihn wie auf einen Parasiten reagierend.” (Naar een citaat uit een Russische mededeeling van het jaar 1893). Als voorbeelden noemde hij: *Daphnidae*, *Glochidium* en *Cyclas*, *Peripatus*, *Pipa*, *Salamandra*, haaien, zoogdieren. Ik geloof niet dat *Faussek* hier gelijk heeft. Wanneer er vóór de aanwezigheid van de eieren of de embryo's geen aanpassingen zijn, die met het leven van de embryo's in het moederdier in verband staan, zou men van parasitisme kunnen spreken. Is dit echter wel het geval, is het organisme dus van

te voren op de ontvangst van de embryo's voorbereid, dan gaat dat moeilijk, daar, voor zoover ik weet, geen geval bekend is waar een dier aanpassingen vertoont in verband met een later optredende parasiet.

Kan men bij *Sphaerium* van parasitisme spreken? Ik geloof van wel. De zakjes ontwikkelen zich pas, wanneer de eieren zich in de kieuwen bevinden. Hun geheele ontwikkeling is als een reactie van de kieuwen op de aanwezigheid van de embryo's op te vatten, de ontwikkeling van de groote cellen van den wand als hypertrophie. De eenige moeilijkheid is, dat zich aan de interlamellaire verbindingen op de plaats, waar later de broedzakjes zullen ontstaan, verdikkingen bevinden, die bij het ontstaan van de broedzakken van belang bleken te zijn. Mogelijk is, dat deze verdikkingen gevormd zijn onder invloed van oudere broedzakken, die zich al in de kieuwen bevonden. Zooals ik in het vorig hoofdstuk opmerkte, ontbreken ze soms, en zijn ze voor de vorming van de broedzakken niet noodzakelijk.

Ook het uittreden van de leucocyten is een typische reactie op de aanraking door een vreemd voorwerp, event. parasiet.

Op de plaatsen, waar de oudere broedzakken het subsegmentaire weefsel, dat de kieuwholte begrenst, aanraken, ondergaan de cellen dezelfde veranderingen als de cellen van den wand van de zakken. Ook hieruit meen ik te mogen besluiten, dat deze veranderingen het gevolg zijn van de aanwezigheid van een vreemd voorwerp.

VII. Samenvatting der resultaten.

De embryo's van *Sphaerium rivicola* ontwikkelen zich in de binnenste kieuwen, in geheel gesloten zakjes. In iedere kieuw bevinden zich gewoonlijk meerdere zakjes, meest met 1 of 2, soms met 3, en zelden met 4 embryo's van dezelfde grootte.

De uitvoergangen van de gonaden monden in de gemeenschappelijke holte van de binnenste kieuwen uit, de eieren kunnen dus direct in deze terecht komen.

In het voorste gedeelte van de kieuwholte komen de eieren tusschen het subsegmentaire weefsel van aan elkaar grenzende filamenten te liggen. Waarschijnlijk dringen zij er zich actief tusschen. In vele gevallen is het subfilamentaire weefsel in dit gedeelte van de kieuwen sterk verdikt en bevinden er zich vele bloedcellen in. Zoodra het ei zich tusschen de filamenten bevindt, ontstaat aan weerszijden een ringvormige verdikking aan het subsegmentaire weefsel, welke beide verdikkingen met elkaar vergroeien en op deze wijze een aan alle zijden gesloten zak om het ei vormen.

De bloedcellen, die zich in den wand bevonden, treden uit in het zakje; andere dringen er, vanuit de lacunen van de beide interlamellaire verbindingen, welke het zakje vormen, in.

In een aantal cellen van den wand deelt de kern zich eenige malen direct, de op deze wijze ontstane kernen versmelten tot één complexen kern met meerdere nucleoli. De cellen waarin dit plaats vindt, ondergaan nog een reeks van veranderingen, die tot degeneratie leiden. Voor de cellen geheel uiteenvallen, kunnen ze uit den wand loslaten.

De andere cellen van den wand vermeederen zich door in-

directe deeling en vormen op deze wijze voorraden, waaruit nieuwe groote cellen met complexe kernen kunnen ontstaan.

Aan elkaar grenzende zakken van gelijken leeftijd kunnen met elkaar versmelten, in andere gevallen kunnen meerdere eieren tegelijkertijd in één zakje worden ingesloten.

Het embryo in den broedzak voedt zich met alles, wat zich in den zak bevindt: de bloedcellen die het jonge zakje zijn binnengedrongen, cellen die van den wand hebben losgelaten, stoffen die bij degeneratie van de cellen van den wand ontstaan. Een klierepitheel mag men den wand niet noemen, hij ontstaat als een hypertrophie van het kieuwepitheel, veroorzaakt door de aanwezigheid van het ei en het embryo.

De verschillende soorten van cellen, waaruit het kieuwepitheel van *Sphaerium rivicola* bestaat, kunnen niet in elkaar overgaan, zooals *Helvestine* meende.

De bloedcellen van *Sphaerium rivicola* kunnen zich mitotisch deelen.

LITERATUUR.

- Baer, C. E. v. 1830*, Ueber den Weg den die Eier von unseren Süßwassermuscheln nehmen um in die Kiemen zu gelangen. Arch. Anat. Phys. p. 313.
- De Bruyne, C. 1896*, Contr. à l'étude de la phagocytose. Arch. Biol. Bd. 14, p. 161.
- *1898*, Rech. au sujet de l'intervention de la phagocytose dans le développement des Invertébrés. Arch. Biol. Bd. 15, p. 181.
- Faussek, V. 1904*, Viviparität und Parasitismus. Zool. Anz. Bd. 27, p. 761.
- Helvestine Jr., F. 1921*, Amitosis in the ciliated cells of the gill filaments of *Cyclas*. Journal of Morphology Bd. 36, p. 103.
- Jacobson, L. L. 1828*, Bidrag til Blöddyrenes anatomie og physiologie III. Cycladens anatomiske Undersøgelse. Kgl. Danske Videnskabernes Selskabs naturv.-math. Afhandlinger Bd. 3, p. 303.
- Janssens, F. 1893*, Les branchies des Acéphales. La cellule. Bd. 9, p. 7—91.
- Kollmann, M. 1908*, Rech. sur les leucocytes et la tissu lymphoïde des invertébrés. Ann. Sc. nat. Zool. Sér. 9, Bd. 8, p. 1.
- Latter, O. H. 1891*, Notes on Anodon and Unio. Proc. Zool. Soc., London p. 52.
- Lefevre, G. en Curtis, W. C. 1912*, Studies on the reproduction and artificial propagation of fresh-water mussels. Bull. Bur. Fisheries Bd. 30, p. 109.
- Leydig, F. 1855*, Anatomie und Entwicklungsgeschichte von *Cyclas*. Müllers Archiv p. 47—66.
- Meisenheimer, J. 1921*, Geschlecht und Geschlechter im Tierreiche.
- Obst, P. 1899*, Unt. über das Verhalten der Nucleolen bei der Eibildung einiger Mollusken und Arachnoïden. Z. wiss. Zool. Bd. 66, p. 161.
- Ortmann, A. E. 1911*, A monograph of the Najades of Pennsylvania. Mem. Carnegie Mus. (Pittsburg) Bd. 4, p. 279—347.
- Peck, R. H. 1877*, The minute structure of the gills of Lamellibranch Mollusca. Quart. Journ. micr. Sc. Bd. 17, p. 43.
- Pelseneer, P. 1895*, l'Hermaphroditisme chez les Mollusques. Arch. Biol. Bd. 14, p. 33.

- Pelseneer, P.* 1906, Mollusca in Lankester's Treatise on Zoology Part V.
- 1911, Les Lamellibranches de l'expédition du Siboga. Partie anat. Siboga-Exped. Mon. 53a.
- Posner, C.* 1877, Histiologische Studien über die Kiemen der acephalen Mollusken. Arch. mikr. Anat. Bd. 14, p. 132.
- Poyarkoff, E.* 1910, Incubation des embryons et régénération des branchies chez les Cyclas (*Sphaerium corneum*). Arch. Zool. Expér. Gén. Sér. V Bd. 5, p. CXXV.
- Schereschewsky, Helene* 1911, Struktur und Bildung der Bruttaschen bei *Cyclas cornea* L. Z. wiss. Zool. Bd. 98, p. 677.
- Stauffacher, H.* 1894, Eibildung und Furchung bei *Cyclas cornea*. Jen. Zeitschr. Bd. 28, p. 196.
- 1903, Einiges über Zell- und Kernstrukturen. Z. wiss. Zool. Bd. 73, p. 368.
- 1910, Beitr. zur Kenntniss der Kernstrukturen. Z. wiss. Zool. Bd. 95, p. 1.
- Stepanoff, P.* 1865, Ueber die Geschlechtsorgane und die Entwicklung von *Cyclas*. Arch. Naturgesch. Bd. 31, p. 1.
- Wasserloos, E.* 1911, Die Entwicklung der Kiemen bei *Cyclas cornea* und andern Acephalen des süßen Wassers. Zool. Jahrb. Abt. Anat. Ont. Bd. 31, p. 171.
- Ziegler, H. E.* 1885, Die Entwicklung von *Cyclas cornea* Lm. Z. wiss. Zool. Bd. 41, p. 525.
-

FOTO'S MET BESCHRIJVING

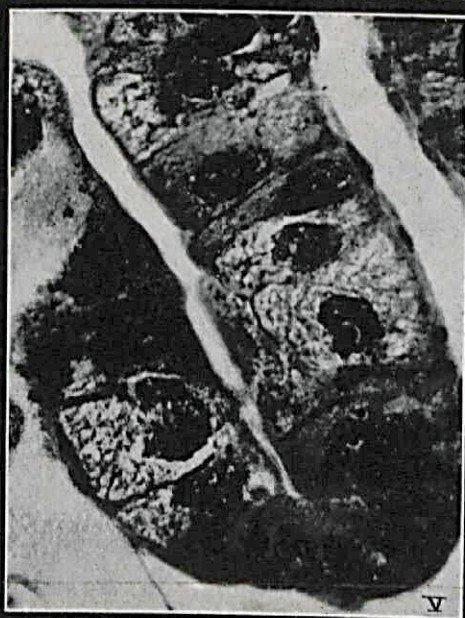
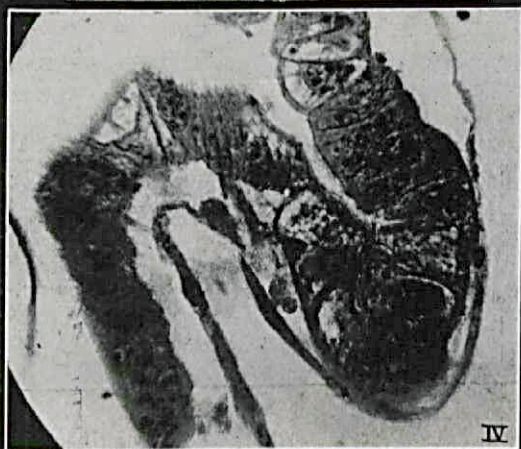
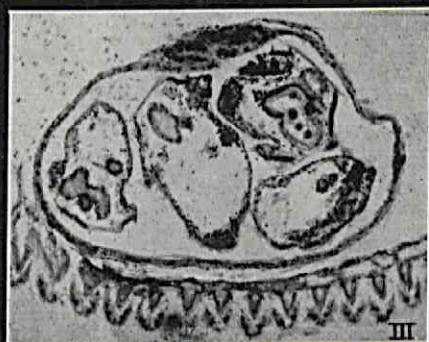
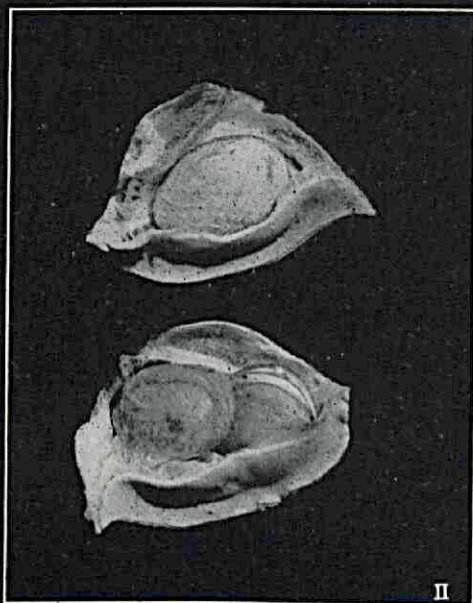
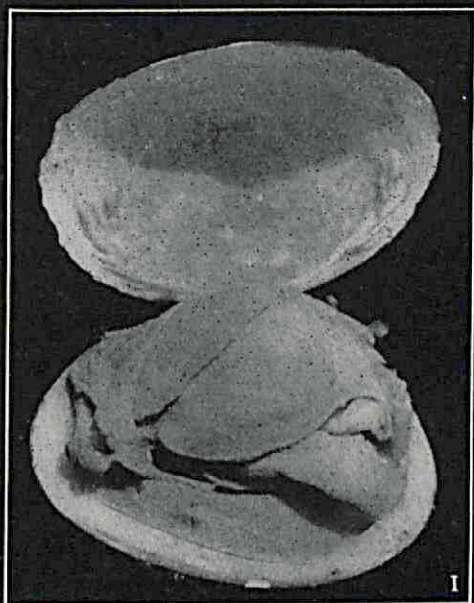
Fig. I. *Sphaerium rivicola*, exemplaar van 18 mm lengte, waarvan de rechter schaal omgeslagen is om de ligging van de kieuwen, met de zich daarin bevindende embryo's te laten zien. Vergr. $3\frac{1}{2}\times$.

Fig. II. Rechter (onder) en linker (boven) kieuw van *Sphaerium rivicola*, van de binnenzijde gezien. In de rechter kieuw is één groote zak en één vrij embryo zichtbaar. Vergr. $4\times$.

Fig. III. Doorsnede door een zak met vier embryo's. Vergr. $40\times$.

Fig. IV. Foto van een doorsnede door den wand van een grooten broedzak. Beide lagen van den wand (de dunne buitenste en de veel dikkere binnenste) zijn zichtbaar. Vergr. $400\times$.

Fig. V. Foto van een doorsnede door het deel van een broedzak, waarmee deze aan de kieuw is vastgehecht. Vergr. $400\times$.



PLAAT II

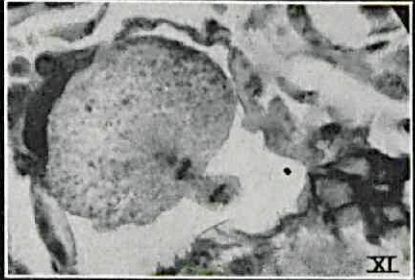
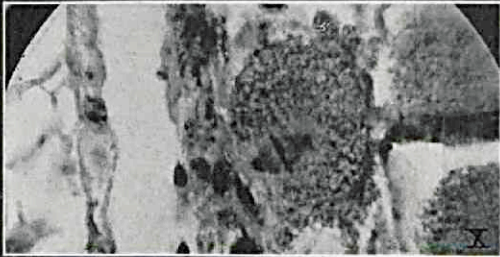


Fig. VI. Foto van een doorsnede door den wand van een grooten zak. In de meeste cellen zijn de complexe kernen met de vele nucleolen, het sterk gevacuoliseerde protoplasma en de uit dichter protoplasma bestaande zoom zichtbaar. Vergr. 400 $\times$.

Fig. VII. Doorsnede door een zakje met een jong embryo. Een deel van den wand van het zakje bestaat slechts uit een zeer dunne membraan. Vergr. 360 $\times$.

Fig. VIII. Doorsnede door een zakje, dat aan de eene zijde uit een laag cellen, aan de andere zijde uit de basale membraan van één van de interlamellaire verbindingen bestaat. Vergr. 330 $\times$.

Fig. IX. Foto van de in fig. 18a en 18b afgebeelde doorsnede. Vergr. 400 $\times$.

Fig. X. Reductiedeeling van het ei van *Sphaerium rivicola*. Vergr. 600 $\times$.

Fig. XI. Reductiedeeling van het ei van *Sphaerium rivicola*. Het eerste poollichaampje is gevormd. Vergr. 600 $\times$.

STELLINGEN

I

De bevruchte eicel van de Metazoa is potentiëel niet gelijk aan de Protozoën-cel.

II

De embryo's van de Sphaeriidae, welke zich in de kieuwen van de volwassen dieren ontwikkelen, gedragen zich tegenover deze als parasieten.

III

De bouw van de kieuwen mag niet als grondslag voor een systeem van de Lamellibranchia worden gebruikt.

IV

Injectie- en voedingsproeven met oplossingen van ijzerverbindingen kunnen geen inzicht verschaffen in het probleem van de normale resorptie.

V

Chromatophoren van hogere planten zijn in symbiose met deze levende één-cellige wieren.

VI

De enzyme-theorie van *Goldschmidt* kan de verschijnselen der erfelijkheid niet verklaren.

VII

De auxiliaircellen van de Rhodophyceae spelen geen rol bij de voeding van de sporogene draden.

VIII

Het gebruik van de termen „sporophyt” en „gametophyt” bij de beschrijving van de generatiewisseling van verschillende wieren leidt tot verwarring.

IX

De paaitrek van *Anguilla vulgaris* mag men als een steun voor de theorie van *Wegener* over het ontstaan van de continenten beschouwen.

X

Pterodactyloidea en Rhamphorhynchoidea kunnen niet als twee afzonderlijke orden van de Reptielen worden beschouwd.

XI

Het is wenschelijk, dat proefschriften ter verkrijging van den graad van doctor in de exacte wetenschappen aan een Nederlandsche universiteit, in het Nederlandsch zijn geschreven.

