



# De elevatie van *Lebistes reticulatus*

<https://hdl.handle.net/1874/342802>

1939

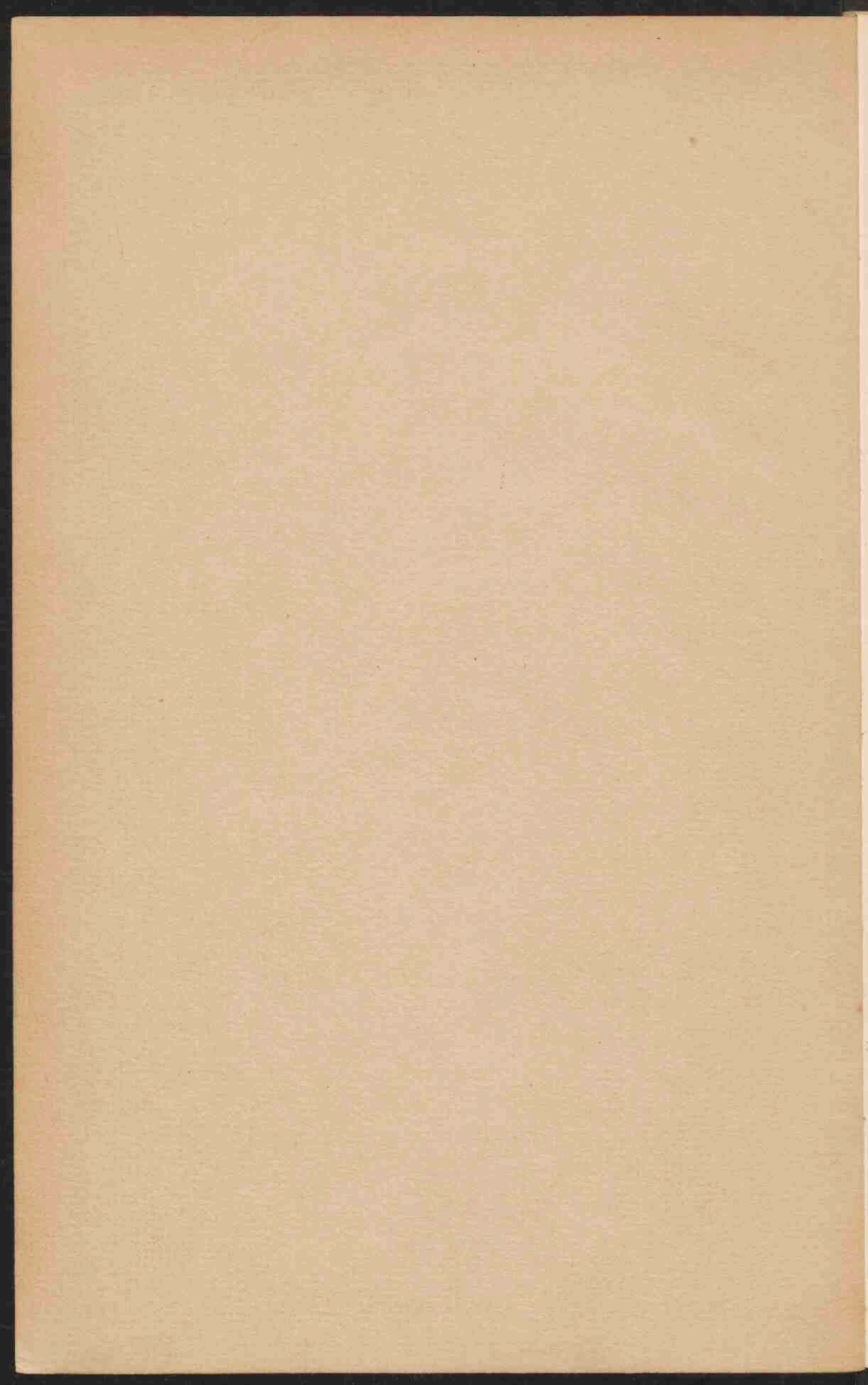
DE ELEVATIE VAN  
LEBISTES RETICULATUS

C. J. JASKI

qu.  
2

A. qu.  
192





*N. 40. 192, 1939.*

# DE ELEVATIE VAN LEBISTES RETICULATUS

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN  
DOCTOR IN DE WIS- EN NATUURKUNDE  
AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT,  
OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS  
Dr. TH. M. VAN LEEUWEN, HOOGLEERAAR  
IN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE,  
VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER  
UNIVERSITEIT TE VERDEDIGEN TEGEN  
BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER  
WIS- EN NATUURKUNDE, OP MAANDAG  
5 JUNI 1939, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR,

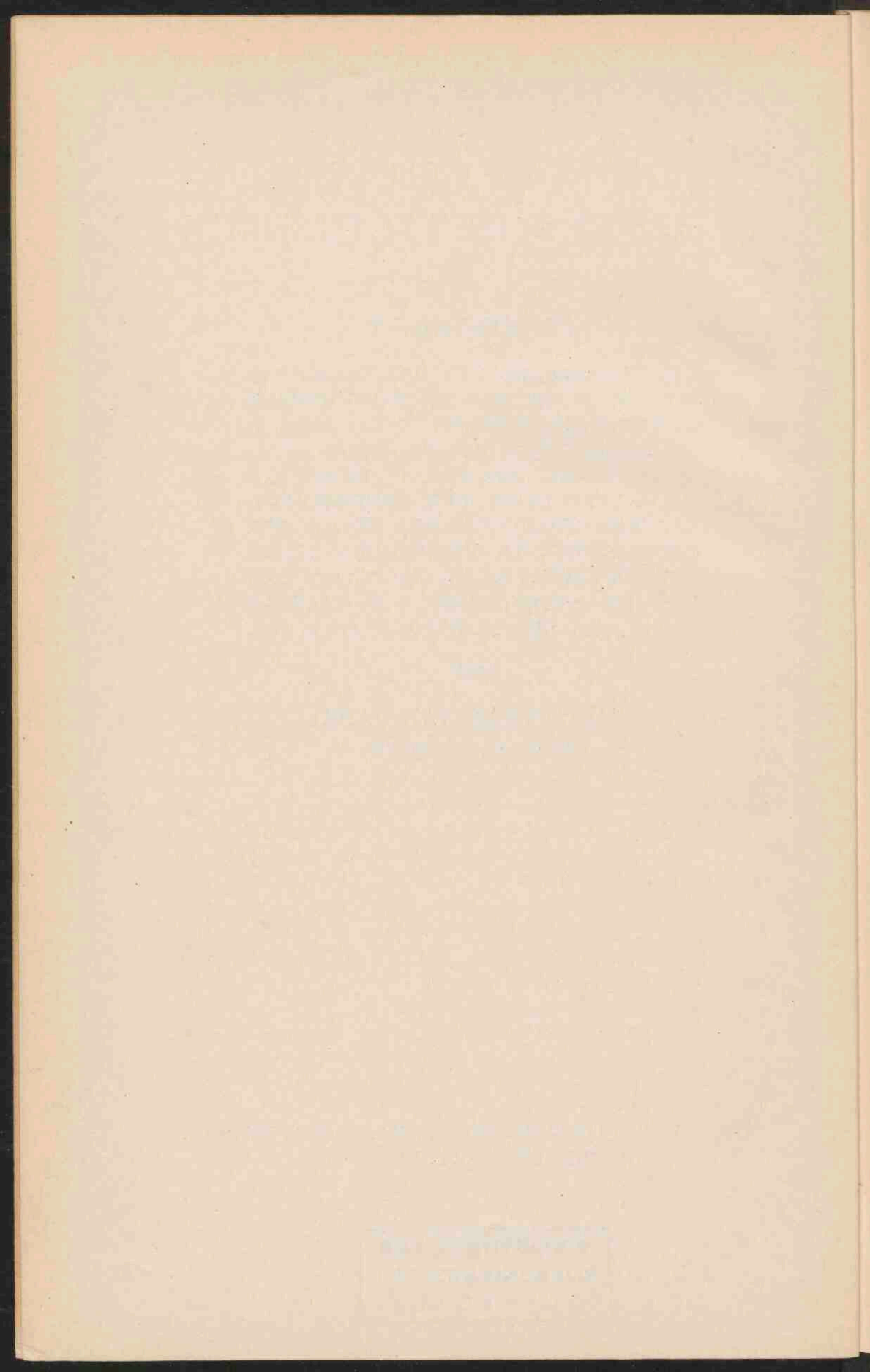
DOOR

CHRISTIAAN JAN JASKI

GEBOREN TE JOHANNESBURG

BIJ J. B. WOLTERS' UITGEVERS-MAATSCHAPPIJ N.V.  
GRONINGEN — BATAVIA — 1939

BIBLIOTHEEK DER  
RIJKSUNIVERSITEIT  
UTRECHT.



Wie na het doctoraalexamen een lange reeks van jaren laat verstrijken alvorens zich tot het schrijven van een proefschrift te zetten, ziet zich ongetwijfeld voor enkele bijzondere moeilijkheden gesteld. Daar staan echter even onmiskenbare voordeelen tegenover. Zulk een voordeel, dat door mij in dit uur wordt ervaren als een voorrecht, is de gelegenheid om op rijperen leeftijd en wellicht met een juistere waardeering te kunnen getuigen van mijn erkentelijkheid jegens mijn leermeesters. Dat dit moet geschieden ten overstaan van hunne zoozeer gedunde gelederen, vermengt de vreugde, waarmede ik dit voorrecht aanvaard, met weemoed.

Hooggeleerde Westerdijk, gij hebt Uw ambt eerst aanvaard, nadat mijn belangstelling zich reeds meer in het bijzonder op de erfelijkheidsleer had gericht. Dat ik nochtans gedurende enkele jaren in de gelegenheid was Uwe colleges te volgen, beschouw ik nog steeds als een voorrecht.

Hooggeleerde Jordan, tegenover U voel ik mij zeer dankbaar gestemd. Wij bezochten Uwe colleges ten einde ingeleid te worden in de physiologie, doch nimmer verliet ik de zaal, zonder bovendien in rijke mate te hebben geprofiteerd van Uwe groote didactische en wijsgeerige kennis.

Hooggeleerde Pulle, dat ik mij op mijn talrijke tochten door de Javaansche vloed- en bergbosschen geen vreemdelling gevoelde, doch veeleer iemand die met voortreffelijke introducties kwam, was een steeds wederkerende, vreugdevolle belevens, die ik U te danken heb.

Hooggeleerde Raven, dat gij mijn promotor hebt willen zijn, stel ik op hoogen prijs. Grooten dank ben ik U verschuldigd, niet alleen voor de raadgevingen, die ik van U mocht ontvangen bij het samenstellen van dit proefschrift, maar ook en bovenal voor Uwe belangstelling in mijn werk.

Hooggeleerde Koningsberger, dat gij den leerstoel bezet, waaraan voor ons allen zulke bijzondere herinneringen verbonden zijn, heeft niemand Uwer studiegenooten verrast en allen verblijd.



Zeergeleerde Hirsch, de volmaakte gastvrijheid, die ik mocht genieten in Uw laboratorium en in den kring Uwer medewerkers, alsook de bereidwilligheid, waarmede gij mij steeds terzijde hebt gestaan, geven U aanspraak op mijn oprechte dankbaarheid.

Wat ik mijn vrienden Bretschneider, Duyvené de Wit en Prijs te danken heb, laat zich niet omschrijven. Ik zie daarvan af, aangezien elke poging daartoe tekort zou schieten.

Tenslotte nog een woord van dank aan allen, die mij op eenigerlei wijze bij het tot stand komen van dit proefschrift behulpzaam zijn geweest.

## HOOFDSTUK I.

### EENIGE GEGEVENS BETREFFENDE DE BIOLOGIE EN DE TEELT VAN LEBISTES.

#### 1. Het milieu.

*Lebistes reticulatus* (Peters), de „gup” der aquariumliefhebbers, werd in het jaar 1886 geïmporteerd uit Trinidad. Tegenwoordig schijnt de soort op verschillende plaatsen in Centraal Amerika te zijn verwilderd. Oorspronkelijk moet haar vaderland echter het oostelijke deel der Antillen geweest zijn. De omstandigheden, waaronder zij op deze droge eilanden moet leven, brengen mede, dat zij slechts geringe eischen mag stellen aan het milieu en een groot weerstandsvermogen moet bezitten tegen temperatuurschommelingen, zuurstofgebrek en al het verdere ongerief, dat haar deel wordt, wanneer in den drogen tijd de wateren indampen tot nietige poeltjes. Persoonlijk was ik in staat mij hiervan te overtuigen te Batavia. *Lebistes* komt daar verwilderd voor in een kleine kali, die door de stadsuitbreiding van de laatste vijftien jaren verworpen is tot een traagstroomende afvoergoot van ongerechtigheden. Zoo sterk is de vervuiling van het water, dat zelfs de labyrinthvisschen er sedert lang verdwenen zijn. Van de inheemsche visschen heeft alleen *Hemirhamphus fluviatilis* zich kunnen handhaven, maar dit is dan ook een soort, die zich geheel aangepast heeft aan het leven aan de oppervlakte, waardoor zij onafhankelijk is geworden van den toestand daar beneden.

In dit hoogst ongunstige milieu leeft echter één soort in voorspoed en dat is *Lebistes*, de vreemdeling. Niet bedreigd door roofvisschen en te klein om zelfs door den Soendanees te worden gewaardeerd, omgeven door een overvloed van niet nader te specificceeren voedsel, hebben de nakomelingen van enkele ontsnapte aquariumbewoners zich daar vermeerderd tot een krioelende massa.

In den regentijd heeft dit watertje enkele vertakkingen, welke tijdens den Oostmoesson geheel droogvallen. In de kentering verandert zulk een kreekje voor korten tijd in een reeks van snel slinkende poeltjes, waarin het wemelt van „gupjes”. Bij tientallen ziet men ze heen en weer schieten in plasjes, die nog

geen meter middellijn en een diepte van slechts enkele centimeters hebben. Men kan zich licht voorstellen, wat de dieren daar te doorstaan hebben, wanneer de tropenzon in het zenith staat! Deze toestanden schijnen veel overeenstemming te vertoonen met die, welke in Centraal- en Midden-Amerika heerschen.

L. Guppy, die de eerste systematische verzamelaar van de visschen van Trinidad was, teekent omtrent *Lebistes* (toentertijd nog slechts plaatselijk bekend onder den naam van „belly-fish”) het volgende aan: „It is very plentyfull, especially in such places as the Dry River, at Belmont, a suburb of Port of Spain, where they swarm in the filthy soapy water that drains from the yards of the dwellings along the river. They save a deal of trouble by consuming the mosquitoworms.”

C. T. Regan, die de aantekeningen van Guppy bewerkt heeft, schrijft: „Mr. Guppy's collection was done in the northern part of the island, and most of the fish were taken in the Streat-ham Lodge Estate in muddy streams draining into the Caroni River, flowing through narrow ravines in which there is a considerable growth of rank grass. In times of drought these streams form a series of almost isolated pools”<sup>1)</sup>.

Naar het schijnt zijn de kleine, weerlooze tandkarpertjes in hoofdzaak op de kleine watertjes aangewezen.

In zijn monographie over het geslacht *Girardinus* (Ztschr. f. wiss. Zoöl. Bd. 38, 1883) schrijft Hermann von Ihering namelijk ook: „Die Girardinusarten leben (nämlich) eben so wie die nahe verwandten Poecilien, mit denen sie zusammen die kleinsten Süßwasserfische Südamerikas darstellen, in oft sehr seichten Gräben und Pfützen, in welchen man sie scharenweise flink umherschiesst sieht.” Voorts: „Mehr als irgend welche anderen Fische sind daher diese der Gefahr ausgesetzt, ihr Wohngebiet ausgetrocknet zu sehen. Tritt dieser Fall ein, so ist

<sup>1)</sup> C. T. Regan, On the freshwater fishes of the island of Trinidad. Proc. of the Zool. soc. of London, 1906, p. 378—393.

Th. Gill vermeldt de soort niet in zijn (zeer onvolledige) Synopsis of the freshwaterfishes of the western portion of the island of Trinidad. Ann. of the Lyceum of Nat. Hist. of New York, vol. VI, p. 366—368, 1858.

Günther was de eerste, die de soort (onder den naam *Girardinus Guppi*) in zijn catalogus beschreef. (1859—1870).

offenbar der erwachsene, resp. auch halbwüchsige Fisch weit eher in der Lage sich retten zu können als die kleinsten und schwächsten, oder als es gar halbreife Embryonen sein würden. Die Girardinus können sich durch Aufschlagen mit dem Schwanz hoch emporschnellen und weit dadurch entfernen. Beim Eintrocknen eines Grabens oder einer Pfütze vermögen sie auf diese Weise sich aus dem Trocknen herauszuschaffen und nach den tieferen noch Wasser führenden Stellen zu retten. Mit ihnen sind auf diese Weise die Embryonen der trächtigen Weibchen gerettet."

Deze laatste citaten hebben betrekking op de Braziliaansche Girardinussoorten, die door von Ihering werden bestudeerd in de provincie Rio Grande do Sul. *Lebistes* is echter nauw met het geslacht Girardinus verwant. Oorspronkelijk werd de soort zelfs onder den naam *Girardinus Guppy* <sup>1)</sup> tot dit geslacht gerekend. Deze naam werd speciaal gegeven aan het ras, dat op Trinidad inheemsch is. De zeer nauw verwante rassen van Venezuela en Barbados droegen respectievelijk de namen *Poecilia poeciloides* en *Poecilia reticulata*. Het in Europa levende materiaal bestaat vermoedelijk voor het overgrootste deel uit kruisingsproducten tusschen deze drie rassen.

Toen de soort in Europa geïmporteerd was, werd zij daar in korten tijd populair. Verschillende factoren werkten daartoe mede. Vooreerst behoort zij tot de levendbarende Cyprinodonten, wier teelt zoo uitermate gemakkelijk is. Een verdere aanbeveling vormden de kleine afmetingen en tenslotte bleek de soort bijzonder sterk te zijn, hetgeen na het voorgaande wel geen verwondering zal verwekken. De verzorging vereischte dus weinig aandacht. Tegenwoordig, nu de ernstige liefhebbers er juist een eer in stellen om de bijzondere moeilijkheden te overwinnen, waarvoor de verzorging en de teelt der talrijke nieuwere importaties hen stellen, heeft *Lebistes* aan populariteit ingeboet. Toch wordt de soort nog steeds door enkelen gehouden, hetgeen in hoofdzaak te danken is aan de weergalooze variabiliteit der mannetjes. Reeds meermalen heeft

---

<sup>1)</sup> Sommige auteurs schreven G. Guppi, andere G. Guppy of G. Guppyi.

deze de aandacht der genetici getrokken <sup>1)</sup>). Op ander gebied werd tot dusverre nog slechts weinig met *Lebistes* geëxperimenteerd <sup>1)</sup>). Dit houdt ongetwijfeld verband met de nietige afmetingen, die intusschen juist een aanbeveling vormen ingeval men statistische onderzoeken doet.

Ofschoon *Lebistes* een tropisch geslacht is, verdraagt deze visch desnoods een temperatuur van 12° C. Anderzijds worden temperaturen verdragen, die zelfs in de kleinste tropenwater-tjes slechts bij uitzondering bereikt zullen worden. De mannetjes verdragen meerdere uren achtereen temperaturen van 38° tot 40° C. Hetzelfde geldt voor de wijfjes, indien zij niet drachtig zijn. Drachtige exemplaren zijn gevoeliger en sterven, indien de temperatuur boven 37° C. komt.

Ik bracht driehonderd dieren in drie uur tijd van 12° op 40° C., hield de temperatuur anderhalf uur op deze hoogte en bracht haar daarna terug tot 20° C., waartoe twintig minuten werden genomen. Drieenveertig drachtige wijfjes stierven. De overige dieren, waaronder nog drie drachtige wijfjes, ondervonden geen schadelijke gevolgen van het experiment.

Deze groote weerstand tegen temperatuurschommelingen beteekent echter niet dat *Lebistes*, binnen zekere grenzen, onverschillig zou zijn voor de temperatuur van het milieu. Naar ik vond, bedraagt de optimale temperatuur van 27° tot 30° C. De dieren zijn dan het mooist. Niet alleen, dat de kleuring der mannetjes bij deze temperatuur het beste uitkomt, ook de anders zoo onoogelijk grauwe wijfjes krijgen een fraaien, goud-bronzen gloed. De groei der dieren is maximaal en de drachtduur minimaal. Tenslotte bleek mij, dat de soort bij deze temperatuur het minst vatbaar is voor infectieziekten.

## 2. De voeding.

*Lebistes* aanvaardt allerlei plantaardig en dierlijk voedsel, en, voor zoover ik heb nagegaan, ook allerlei in den handel voorkomende preparaten. Men dient echter voor oogen te houden, dat het natuurlijke voedsel in hoofdzaak bestaat uit algen en de daartusschen levende microorganismen. Een oude algenvegetatie op de ruiten van het aquarium is dan ook van groote

<sup>1)</sup> Zie de literatuuropgave.

waarde. Ik heb er steeds naar gestreefd, de dieren zoo zorgvuldig mogelijk te voederen. Vooreerst omdat het water zoo zuiver mogelijk gehouden diende te worden, maar bovendien omdat bleek, hoezeer de gegevens vertroebeld worden, indien men niet uitsluitend met volkomen doorvoed materiaal werkt. (Hoofdstuk III).

Nu kan ieder hengelaar getuigen, hoe onberekenbaar de eetlust der visschen is. Ofschoon klimatologische invloeden daarbij een rol spelen, komt men telkens weder voor verrassingen te staan. Hoewel in het verwarmde aquarium de omstandigheden minder veranderlijk zijn dan in het buitenwater, blijkt de visch hier al evenmin een reguleerbare eetmachine te zijn. Dagenlang zal hij gretig een of ander preparaat tot zich nemen en alle levende voedsel negeeren. Doch op eenmaal komt er een dag, dat hij zonder belangstelling langs hetzelfde voedsel zwemt. De darm is leeg, maar niettemin schijnt alle eetlust te ontbreken. Tot men levend voedsel toedient. Als haaien schieten de visschen toe en rukken elkander den prooi uit den bek. Deze voorkeur, die wellicht berust op een behoefte aan vitaminen, kan korter of langer duren, maar ook zij zal voorbij gaan. Men voedere dus slechts kleine hoeveelheden tegelijk en controleere, of het voedsel aanvaard wordt. Doet men dit niet, dan zinken de resten op den bodem of wel zij blijven in het water zweven. In beide gevallen komt het tot rotting met alle onaangename gevolgen daarvan. Elk ervaren liefhebber houdt zich aan dit voorschrift, maar helaas overdrijven velen het systeem en laten hun dieren hongeren. Dit kan langen tijd goed gaan, want visschen hebben, vooral bij niet te hooge temperatuur, slechts weinig onderhoudsvoedsel noodig. Groei en voortplanting zullen dan echter teleurstellen en eventueele proeven, met zulke dieren gedaan, verliezen veel van hun waarde. Persoonlijk voederde ik daarom meermalen daags, bij kleine hoeveelheden en met zoo veel mogelijk variatie. Naast algen kregen de dieren als levend voedsel *Tubifex* en *Daphnia* en van de handelspreparaten bij voorkeur *Albol*. Hiermede wil niets gezegd zijn ten nadeele van andere preparaten, doch alleen, dat het mij met *Albol* het beste gelukte om de juiste doseering te vinden. (Het personeel van Artis deelt in deze mijn voorkeur.) *Tubifex* behoeft niet verkleind te worden. Reeds vischjes van veertien dagen oud weten zich behoorlijk van hun portie te verzekeren.

### 3. Teelt en drachtduur.

De teelt der levendbarende tandkarpertjes is al zeer gemakkelijk. Gegeven kerngezonde ouderdieren en een rottingvrij bakje, kan zij niet mislukken. Al naar omstandigheden kan men een groote school van ouderdieren in een ruim aquarium houden of een enkel paartje in een klein bakje. Met *Lebistes* verkrijgt men bij voorbeeld reeds resultaten in een bakje van twee Liter inhoud, mits men het bakje van een ondiep model kiest (diepte van het water 6 tot 8 cm.) Afdekken der aquaria is volstrekt noodzakelijk. Niet alleen wordt daardoor stof geweerd, maar tevens voorkomt men dat de vischjes er uit springen. Vooral de mannetjes vertoonen in dit opzicht een merkwaardige vaardigheid en ondernemingsgeest. Zoo had ik er eens een, die over een vrijen aquariumrand sprong, welke zich 12 cm boven den waterspiegel bevond (d.i. vier maal de lichaamslengte van het dier).

Uiteraard verkrijgt men de beste teeltresultaten bij optimale temperatuur. Daar beneden slaagt de teelt nog behoorlijk, mits de temperatuur niet lager dan 20° C. komt. Beneden 18 graden zullen drachtige dieren nog wel werpen, doch men mag dan geen nieuwe bevruchting meer verwachten.

In ons kamerklimaat bedraagt de drachtduur: Bij 15° C. vijfendertig dagen, bij 18° C. dertig dagen, bij 20° C. achtentwintig dagen en bij optimale temperatuur 24 tot 25 dagen. Bij hogere temperaturen kon ik geen verkorting van den drachtduur vinden. De dieren vertoonen dan een supranormale activiteit, die mij niet bevorderlijk toeschijnt voor de zwangerschap.

Schmidt (zie G. Duncker in Biol. Centr. 1919) vond bij 19° een drachtduur van ruim twee en een halve maand en bij 28° een van een maand. Deze waarden verschillen aanmerkelijk van die, welke ik vond. Wellicht kan dit verschil veroorzaakt zijn door een verschil in belichting, afstamming of leeftijd der ouderdieren. Volgens Dildine<sup>1)</sup> schijnt de gonade beïnvloed te worden door licht. Mijn dieren stonden in het volle zonlicht. Of dit ook bij Schmidt's dieren het geval was, is mij niet bekend. Op de vermoedelijke bastaardnatuur der in Europa

<sup>1)</sup> G. C. Dildine: The effect of light and temperature on the gonade of *Lebistes*. Anat. record Philad. 67, suppl. 1, 1936. Het oorspronkelijke stuk heb ik niet in handen kunnen krijgen.

aanwezige dieren werd reeds gewezen. Een mogelijke invloed van den leeftijd zal in hoofdstuk IV worden aangeroerd.

Purser constateerde een drachtduur van vier of vijf weken. Hij noemt evenwel geen temperatuur. (Nature, London, 1937, p. 155.

Ik heb mij afgevraagd, of wellicht de drachtduur nog op andere wijze te beïnvloeden zou zijn, bij voorbeeld door toevoeging van bepaalde geslachtshormonen aan het water. Hiertoe werd eerst getracht, om een groot aantal even oude en zoo veel mogelijk gelijk ontwikkelde wijfjes gelijktijdig te laten bevruchten. Zoo spoedig mogelijk werden zij daarna in vijf groepen verdeeld. Er stonden mij n.l. toentertijd drie hormonen ter beschikking: oestron, progesteron en testosteron, die met groote voorkomendheid beschikbaar waren gesteld door de firma N. V. Organon te Oss.

De bedoeling was, deze hormonen aan het water toe te voegen. Daar zij in water niet oplosbaar zijn, moest eerst een oplossing worden gemaakt in propyleenglycol. Bij deze en volgende proeven heb ik steeds de hormoonoplossingen zoodanig bereid, dat uiteindelijk per Liter aquariumwater juist één c.c. propyleenglycol moest worden toegevoegd. Ook in de, hieronder te vermelden, contrôlebak kwam daarom per Liter water één c.c. propyleenglycol.

Naast de drie groepen, die elk in een der hormoonmengsels zouden moeten komen, diende ik twee contrôlegroepen samen te stellen: de eene zou in zuiver water moeten leven en de andere in een mengsel van water en propyleenglycol. Direct kan worden vermeld, dat van eenigen invloed van het propyleenglycol geen sprake was. Slechts moesten maatregelen worden getroffen voor een overvloedigen zuurstofaanvoer, daar het propyleenglycol blijkbaar een emulsie in het water vormt, welke voedseldeeltjes en uitwerpselen in het water zwevende houdt. Deze stoffen gaan spoedig tot rotting over. Het mengsel werd daarom veelvuldig ververscht.

De drie eigenlijke proefbakken bevatten elk zes Liter leidingwater van optimale temperatuur en kregen daaraan dus zes c.c. propyleenglycol toegevoegd. Voor den eersten bak bevatte dit 3 mgr. testosteron, voor den tweeden 300 gamma progesteron en voor den derden 3 mgr. oestron.

Testeron en progesteron bleken, bij de gebruikte con-



centraties, geen invloed te hebben op den drachtduur. Deze was normaal, namelijk 25 dagen. De doseering van het oestron bleek veel te sterk te zijn. Van de tien proefdieren stierven er zes op den vierden dag. Al deze dieren vertoonden haematomen. De resteerende dieren werden nu een week lang in leidingwater gebracht en kwamen daarna afwisselend een week in een minder sterke oestronoplossing en een week in leidingwater. (Het verminderde oestronmengsel bevatte in 6 Liter water 600 gamma hormoon, opgelost in 6 c.c. propyleenglycol.)

De teelt was ook nu geen succes. Tenslotte viel het nog mede, toen, zeven weken na het begin van de proef, twee jongen werden geboren. Dit resultaat schijnt er op te wijzen, dat oestron de embryonale ontwikkeling aanmerkelijk vertraagt. Het feit, dat in deze proef slechts twee jongen werden verkregen, deed de veronderstelling opkomen, dat toediening van dit hormoon aan het water leidt tot vernietiging van de jonge embryonen. Ik heb getracht, de juistheid van deze veronderstelling te toetsen met behulp van de volgende proef: Honderd juist gerijpte, nog onbevuchte wijfjes werden samengebracht met veertig mannetjes. Na twee maanden waren zij allen drachtig. Bovendien was mij bekend, dat een derde van het totaal voor de eerste maal moest werpen, een derde voor de tweede maal en een derde voor de derde maal. Hieromtrent had ik mij op de volgende wijze zekerheid verschaft. Wanneer een wijfje hoogdrachtig was, werd het overgeplaatst in een tweeden bak. Na het werpen bleef het hierin tot het kennelijk opnieuw drachtig was. Het kwam dan in een derden bak. Na twee maanden waren 33 wijfjes achtergebleven in den eersten bak. Deze hadden dus nog nimmer geworpen. Zij waren nu echter drachtig. In den tweeden bak bevonden zich eveneens 33 wijfjes. Deze moesten nog voor de tweede maal werpen. De 34 wijfjes in den derden bak moesten voor de derde maal werpen.

De honderd wijfjes vertegenwoordigden alle fasen van de dracht. De mannetjes werden nu weggevangen, de wijfjes samengevoegd tot een enkele populatie en vervolgens over een groot aantal bakjes verdeeld. Zij konden daardoor individueel in het oog worden gehouden. Waren nu de wijfjes verder aan hun lot overgelaten, dan had verwacht mogen worden, dat hoogstens een derde na de eerstvolgende (voor hen de

derde) worp niet meer drachtig zou worden. Op een copulatie volgen namelijk zelden minder dan drie worpen (pag. 10).

Er werd evenwel oestron aan het water toegevoegd en wel 150 gamma per Liter. In dit mengsel bleven de dieren zeven dagen, waarna zij in leidingwater kwamen. Wederom zeven dagen later werd de helft (vijftig dieren) gedood en geopend. Het onderzoek der ovaria wees uit, dat 32 ovaria oudere ontwikkelingsstadia van embryonen bevatten en de resteerende 18 ovaria slechts onbevuchte eieren. Sedert het toedienen van het hormoon, dus tijdens de laatste veertien dagen, hadden vier van de vijftig wijfjes geworpen. Aangezien de gevonden embryonen allen ouder waren dan veertien dagen, behoorden de vier dieren, die geworpen hadden, kennelijk tot het achtttiental, dat nu nog slechts onbevuchte eieren bevatte. De resteerende veertien dieren moeten, tenminste voor het meerendeel, bij het begin van de oestronproef jonge embryonen bevat hebben. Immers, er mocht verwacht worden, dat alle vijftig dieren op dat moment drachtig waren, aangezien nog geen hunner voor de derde maal geworpen had. Hieruit schijnt te kunnen worden opgemaakt, dat bij vijftig dieren, alle fasen van de dracht vertegenwoordigend, de veertien dieren met de jongste embryonen deze verliezen. Daaruit zou dan de conclusie volgen, dat gedurende ongeveer het eerste  $\frac{7}{25}$  ( $\frac{14}{50}$ ) deel van de dracht de embryonen aan vernietiging blootstaan. Waar de dracht bij optimale temperatuur ongeveer vijfentwintig dagen duurt komt dit hierop neer, dat genoemde vernietiging dreigt gedurende de eerste week van de dracht. Wellicht houdt dit verband met het feit, dat gedurende deze zelfde periode nog corpora lutea in het ovarium te vinden zijn, terwijl deze later ontbreken.

De resteerende vijftig dieren werden gebruikt om de praktische mogelijkheden der oestronbehandeling na te gaan. De *Lebistes*-wijfjes, die men in den handel koopt, zijn namelijk practisch voor 100 % drachtig. Daar het voor mij noodzakelijk was, om steeds een groot aantal niet-drachtige wijfjes voorradig te hebben zou het van groot nut kunnen zijn, indien een eenvoudige behandeling met oestron de dracht der gekochte dieren zou kunnen vernietigen.

Van deze vijftig dieren wierpen er tijdens en kort na de behandeling vijfendertig. Blijkens het voorafgaande zullen dit dieren geweest zijn, die reeds bij het begin der behandeling

De progesteronproef leverde 26 mannetjes en 26 wijfjes op en de testosteronproef 15 mannetjes en 16 wijfjes.

Bij de geboorte zijn de jongen acht tot negen mm. lang. Van de moeder hebben zij den eersten dag niets te duchten en daarna zijn zij vlug genoeg om zich in veiligheid te brengen. Worden zij geboren in een grooter aquarium, waarin veel volwassen dieren zwemmen, dan worden zij, tenzij men zorgt voor een laag drijvende planten, binnen enkele minuten opgegeten. In ieder geval is het zaak, ze zoo gauw mogelijk weg te vangen. Een bodembepanting van ondergedoken planten belemmert dit wegvangen en moet daarom achterwege blijven.

Het opkweeken geschiedt het beste in kleine, overzichtelijke bakken, met een dichte vegetatie van groenwieren op drie der vier zijruiten. Zulk een algenlaag vormt, met de er in levende microfauna, het beste voedsel voor het jonge broed.

Na de achtste week moeten de dieren minstens één maal per week individueel in doorvallend licht worden gecontroleerd. Daardoor herkent men tijdig de mannetjes aan het groeiende gonopodium, vóór dit tot volle ontwikkeling is gekomen. Men kan de geslachten dan tijdig separeren en heeft daardoor steeds maagdelijke wijfjes in allerlei ontwikkelingsstadia voorradig. Meermalen hoorde ik de veronderstelling uiteen, dat de wijfjes op den duur ziek worden of zelfs sterven zouden, indien men ze maagdelijk tracht te houden. Ik heb geen aanwijzingen kunnen vinden, die de gegrondheid dezer veronderstelling zouden doen vermoeden.

Van de secundaire geslachtskenmerken der mannetjes komt in den regel het gonopodium het eerst tot ontwikkeling. Soms echter wordt reeds vóór dien tijd de pigmentatie zichtbaar. De grootte der volwassen mannetjes loopt vrij sterk uiteen. De allergrootsten ontwikkelen hunne secundaire kenmerken opvallend laat. Daarom is het zaak, de veronderstelde wijfjes na het separeren nog eenige malen te controleren.

Terwijl de afmetingen der mannetjes tamelijk ver uiteen loopen, is dit niet het geval met die van het gonopodium. De volgende metingen, door mij gedaan aan 304 dieren, mogen dit illustreeren. De mannetjes werden daarbij verdeeld in zeven grootteklassen.

Lichaamslengte.	Aantal dieren.	Gem. lengte v.h. gonopodium.
20,35 mm. tot 22,20 mm.	20	$3^{54}/_{200}$ mm.
22,20 mm. „ 24,05 mm.	24	$3^{50}/_{200}$ mm.
24,05 mm. „ 25,90 mm.	80	$3^{50}/_{200}$ mm.
25,90 mm. „ 27,75 mm.	88	$3^{68}/_{200}$ mm.
27,75 mm. „ 29,60 mm.	44	$3^{49}/_{200}$ mm.
29,60 mm. „ 31,45 mm.	28	$3^{78}/_{200}$ mm.
31,45 mm. „ 33,30 mm.	20	$3^{48}/_{200}$ mm.

Als lengte van het gonopodium werd de lengte van de derde vinstraat genomen. De papil <sup>1)</sup>, die zich aan het uiteinde bevindt en die zoowel in vorm als in lengte varieert, werd dus buiten beschouwing gelaten (verg. Hoofdstuk II).

Te Batavia worden de dieren in ongeveer acht weken geslachtsrijp. In dien tijd is de lengte van 8 à 9 mm. toegenomen tot 20 à 25 mm. In Holland bereikten mijn dieren dit stadium, indien zij bij optimale temperatuur werden gehouden, eerst na twaalf tot veertien weken. Naast het verschil in duur, samenstelling en sterkte van het daglicht, speelt hierbij vermoedelijk ook de overvloed aan dierlijk voedsel, die mijn dieren te Batavia steeds ter beschikking stond, een rol. Levende Daphnia's staan in Nederland slechts gedurende enkele maanden ter beschikking en Tubifex ging mijn dieren spoedig vervelen. Jonge gupjes kunnen bovendien slechts heel kleine Daphnia's bemachtigen.

In het voorgaande werd reeds vermeld, dat dieren, die tijdens de rijpingsperiode in oestronhoudend water leefden, opvallend slecht groeiden en eerst de secundaire geslachtskenmerken gingen vertoonen op een leeftijd van drie maanden. Toen deze kenmerken vijf weken later de grens hunner ontwikkeling hadden bereikt, bedroeg de lengte der wijfjes van 18 tot 23 mm. tegen een normale lengte op dezen leeftijd van 35 mm. Ook de mannetjes waren kleiner dan normaal. Hun lengte bedroeg van 16 tot 22 mm., tegen een normale lengte van 27 mm.

Tusschen de werking van progesteron en die van testosteron kon ik geen verschil opmerken. Opmerkelijk

<sup>1)</sup> Langer noemt dit den „lepel“, andere auteurs spreken van „prepuce“.

was, dat de wijfjes snel groeiden en rijpten. De mannetjes daarentegen groeiden langzamer dan normaal. Zij rijpten echter snel en vertoonden reeds binnen een week, dat wil dus zeggen vóór zij negen weken oud waren, secundaire geslachtskenmerken. Wederom een week later waren deze tot volledige ontwikkeling gekomen. Dat de ontwikkeling der gonade even snel en volledig had plaats gevonden, bewees de spoedig intredende zwangerschap der wijfjes. De eerste jongen werden reeds geboren, toen de ouderdieren een leeftijd van dertien weken bereikt hadden. Op een leeftijd van veertien weken overschreden alle wijfjes een lengte van 30 mm. (Hierbij moet nog in aanmerking genomen worden, dat de groei door de zwangerschap vertraagd was.) Geen der mannetjes haalde ten volle een lengte van 20 mm. Op dezen leeftijd is een lengte van ongeveer 25 mm. normaal voor beide geslachten.

Deze beide hormonen blijken de rijping dus aanzienlijk te versnellen. Eveneens versnellen zij den groei der wijfjes. De groei der mannetjes daarentegen wordt vertraagd. Interessant is het feit, dat progesteron de ontwikkeling der mannelijke gonade versnelt. Zulks stemt niet overeen met de ervaringen, die tot dusverre met dit hormoon werden opgedaan bij zoogdieren en die Fels kon samenvatten in de volgende conclusie:

„Jedenfalls kann gesagt werden, dass im Gegensatz zum Follikelhormon das Corpus luteumhormon keinerlei Einwirkung auf den männlichen Genitaltrakt erkennen lässt, weder im hemmenden noch im fördernden Sinn“<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Dr. E. Fels, Das Hormon des Corpus luteum. p. 108. Uitg. Deuticke, Leipzig, 1937.

## HOOFDSTUK II.

### DE COPULATIESTAND.

Bij de levendbarende tandkarpers heeft de overdracht van de spermatozoën plaats door of langs de tot gonopodium gevormde aarsvin. Het eerste is uitzondering, het tweede regel. Overdracht dóór het gonopodium wordt aangetroffen bij *Jenynsia lineata* (verg.: W. F. Langer, Morphologie der viviparen Cyprinodonten, Morph. Jahrb. Bd. 47, 1913) en bij *Anableps anableps* (verg.: S. Garman, The Cyprinodonts. Mem. Mus. Comp. Zool. Harv. Coll. vol. 19, 1895; id.: Sexual rights and lefts. Am. Natural. vol. 29, 1895). Bij de overige geslachten heeft het gonopodium twee laterale groeven, waardoor de spermaklompjes in de genitaalopening van het wijfje glijden. Ook bij *Lebistes* komt deze inrichting voor. De aarsvin bevat hier tien vinstralen. Daarvan groeien de derde, vierde en vijfde uit tot een stevigen stekel. Aan het einde draagt deze een langwerpige papil, die zich tijdens de copulatie in de genitaalopening van het wijfje hecht. De beide spermagroeven bevinden zich aan weerszijden van den derden vinstraal.

Het is in den loop van mijn onderzoek eenige malen voorgekomen, dat wijfjes, die afzonderlijk waren opgekweekt en waarvan het dus vaststond, dat zij maagdelijk waren gebleven, drachtig werden, nadat zij in water waren overgebracht, waarin mannetjes hadden gezwommen. Zij bevatten dan echter nooit meer dan één of twee embryonen. Hieruit kan worden afgeleid, dat incidenteel enkele spermatozoën uit het water in den eileider kunnen overgaan. De normale overdracht van spermatozoën is echter alleen mogelijk, wanneer het mannetje met den top van het gonopodium de urogenitaalpapil van het wijfje kan bereiken. Dit nu blijkt practisch onmogelijk te zijn, zoolang het wijfje zich in den normalen, ongeveer horizontalen stand bevindt. Vaak kan men echter waarnemen, hoe het wijfje, bij het ontwijken van den stormachtigen aandrang van het mannetje, in steile richting naar boven zwemt. Op zulk een moment zou een copulatie mogelijk zijn. Dat zij inderdaad tot stand komt is echter hoogst onwaarschijnlijk, daar de stand in den regel reeds weer veranderd is, vóór de gelegenheid benut kan worden. Ik kon onder

deze omstandigheden slechts éénmaal een geslaagde copulatie waarnemen, hoewel ik in den loop van elf jaren meer dan 43000 exemplaren fokte en opkweekte. Dat het mannetje in staat is, het gonopodium zijdelings uit te zwaaien verandert hierin niets. Immers het zou alleen mogelijk zijn om door een dergelijke beweging de papil te treffen, indien de dieren dicht langs of naast elkaar zwommen. Het schijnbaar zoo afwisselende liefdespel van *Lebistes* bestaat echter slechts uit op grooteren afstand uitgevoerde pronkbewegingen en daarnaast uit niet meer dan twee vormen van charges, die geen van beiden het gonopodium in de nabijheid van de papil kunnen brengen, zoolang het wijfje zich in horizontalen stand bevindt.

De eerste vorm kan worden waargenomen, wanneer de dieren elkander tegemoet zwemmen. Het mannetje stoot naar den kop van het wijfje en schijnt dit den weg te willen versperren. In den regel wijkt het wijfje zijdelings uit, fel doch vruchteloos achtervolgd door het mannetje. Zwemt het wijfje door, dan deinst het mannetje met schokkende bewegingen achteruit, waarbij het vóór het wijfje blijft.

De tweede vorm van chargeeren doet zich voor, wanneer het mannetje het wijfje achtervolgt. Daarbij stoot het voortdurend met den bek naar de papil met het gevolg, dat het wijfje snel en gejaagd blijft vluchten.

Later zal blijken, dat het welslagen der copulatie en daarmee het voortbestaan van de soort volstrekt niet afhankelijk zijn van bovengenoemde incidenteele vluchthoudingen, doch dat er minstens twee oorzaken zijn, waardoor het wijfje op bepaalde tijden een steilen stand aanneemt, waarin zonder moeite gecopuleerd wordt. Ik heb dit den **copulatiestand** genoemd.



Fig. 1. Maagdelijke wijfjes zonder elevatie.  
Boven: zwemmend.  
Beneden: in ruststand.

Een gezond, geslachtsrijp, maagdelijk wijfje bevindt zich eigenlijk alleen tijdens het zwemmen in een horizontalen stand (Fig. 1). Rust het, dan bevindt de kop zich normaliter iets hooger dan de staart. De wervelkolom maakt dan een hoek van 15 tot 20 graden met den horizontaal. In den copulatiestand is deze hoek

veel grooter. Hij bereikt dan waarden van 30 tot 70 graden. Normaal zijn in dat geval hoeken van 30 tot 40 graden, hogere waarden zijn uitzonderingen (Fig. 2).

Deze hoge waarden (boven 20 graden noem ik elevaties. Waar deze elevaties een grooten rol spelen in mijn onderzoek, is een nauwkeurige definitie gewenscht.

Onder de elevatie van een *Lebistes*wijfje versta ik den hoek, die het gedeelte van de wervelkolom tusschen zwemblaas en staartvin maakt met den horizontaal, indien deze hoek meer bedraagt dan 20 graden. De visch moet in rust en dus geheel ontspannen zijn en het water moet verzadigd zijn met zuurstof.

Onder den elevatietoestand van een *Lebistes*wijfje versta ik den toestand, waarin het wijfje periodiek of tengevolge van een hormoonwerking komt te verkeer en die zich uit in het optreden eener elevatie bij het rustende dier.

#### Het bepalen der elevatie.

Vooral bij hogere temperaturen is een visch uiterst beweeglijk, zoodat het bepalen van eventueele elevaties zeer moeilijk is. Aangezien hiervan geen sprake kan zijn, zoolang de visch zwemt, moet een moment worden afgewacht, waarop hij in rust is. Hiertoe is een groote bekendheid met de betreffende soort een eerste vereischte. Bij *Lebistes* bijvoorbeeld, en speciaal bij de wijfjes komen meerdere karakteristieke houdingen voor, die den kenner direct verraden, dat de visch gealarmeerd is en zich stil houdt, in waakzame afwachting van wat er komen moge. Wie de soort niet kent zou dan echter kunnen meenen, dat het dier volkomen rustig is. Ook zuurstofgebrek kan licht

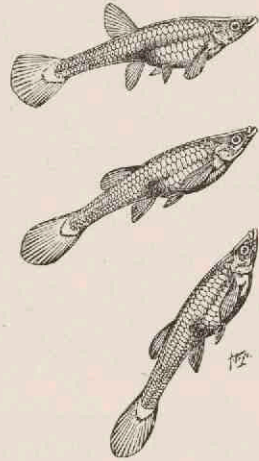


Fig. 2. Maagdelijke wijfjes met elevatie. Boven: zwemmend. Midden en beneden: twee dieren met verschillende elevatie in ruststand.



tot foutieve waarnemingen leiden. Immers, het eerste teeken van zuurstofgebrek is juist het aannemen van een steilen stand. Aangezien bij mijn onderzoek de dieren in kleine bakjes moesten worden gesepareerd, moest vóór alles de zekerheid bestaan, dat de zuurstofvoorziening onberispelijk werkte. Doorlopend werd daarom lucht door het water gepompt, waarbij zorg werd gedragen, dat dit zoo rustig mogelijk gebeurde. Steeds werden de dieren korten tijd vóór het bepalen der elevatie gevoederd. Voor-eerst heeft dit het voordeel, dat zij spoediger rustig gaan staan <sup>1)</sup>. Bovendien meen ik, dat hierdoor de resultaten het beste onderling te vergelijken zouden zijn. Het is n.l. niet onwaarschijnlijk, dat de meer of minder gevulde toestand van den darm invloed uitoefent op den vorm van de zwemblaas en daarmede op den stand van het geheel.

Zelfs wanneer de visch rustig staat is het ondoenlijk, om den stand werkelijk te meten, want zoodra men met een meet-apparaat in de nabijheid komt is het met de rust gedaan.

Het blijkt echter zeer wel mogelijk te zijn, de elevatie te schatten. Een dergelijke methode moge weinig objectief schijnen, maar zij was eenerzijds onvermijdelijk en anderzijds was ik in staat, mij door drieërlei contróle de zekerheid te verschaffen, dat mijn schattingen op  $2\frac{1}{2}$  graad nauwkeurig waren.

De eerste contróle bestond hierin, dat de visch na de eigenlijke schatting in een speciaal, zeer smal bakje werd gebracht, waarvan de bodem en drie van de vier zijwanden dof zwart gemaakt waren. (Hiertoe bleek een combinatie van het snel en gelijkmatig drogende „Nu-enamel” en lampenzwart zeer geschikt.) De rustige, donkere achtergrond maakte dat het dier, ook bij diffuse belichting, op grooten afstand nog goed te onderscheiden was. Het bakje was zoo smal, dat een middelmatig exemplaar slechts met een zekere inspanning er in kon keeren. Op den doorzichtigen voorwand waren lijnen aangebracht, die respectievelijk hoeken van 15, 30, 45 en 60° vormden met den bodem. Ten opzichte van deze lijnen kon de stand nauwkeurig bepaald worden. Bij de tweede contróle kwam het dier in een kleine en zeer smalle cuvette, welke in een projectieapparaat kon worden ge-

<sup>1)</sup> Met staan wordt bedoeld: het geheel ontspannen zweven van den visch.

schoven. De visch werd nu geprojecteerd op een vel wit papier en in de projectie werd, met een enkele lijn, de stand van de wervelkolom aangegeven. Tegelijkertijd werd deze stand in graden geschat. Een eenvoudige meting gaf achteraf de contrôle. Aangezien de visch in de kleine, felbelichte cuvette verontrust en dus ook niet geheel ontspannen is, komt deze methode alleen in aanmerking als oefening. Als zoodanig heeft zij het voordeel, dat de stand van de projectie gemakkelijker te schatten is dan die van het nietige vischje. Nadrukkelijk zij hier vermeld, dat ik nimmer een gegeven voor mijn statistische onderzoekingen heb ontleend aan metingen volgens een dezer beide contrôlemethoden.

Tenslotte ligt een derde contrôle in het totaalbeeld, dat verkregen wordt, door de resultaten van groote series schattingen in overzichtelijke beelden te vereenigen.

#### **Het gedrag van maagdelijke wijfjes, nadat zij zijn samengebracht met mannetjes.**

Na het samenbrengen van veertig wijfjes met tachtig mannetjes in 200 liter leidingwater van 28° C. volgde een intensieve achtervolging van de wijfjes door de mannetjes. Tot copuleeren scheen het echter vooralsnog niet te komen. Meer dan drie etmalen lang kon ik althans geen geslaagde copulatie waarnemen. Tegen het einde van den vierden dag veranderde evenwel het beeld: Alle wijfjes stonden bijeen in een hoek van het aquarium en vertoonden elevaties van 30 tot 70 graden. In een bonte warreling drongen de mannetjes van alle zijden op deze groep in. Talrijke copulaties schenen tot stand te komen, mede door het feit, dat de anders zoo schuwe wijfjes zich bijna niet daaraan trachtten te onttrekken. Zes tot twaalf uur na het begin van het verschijnsel hadden alle wijfjes weer normale standen aangenomen en werd de achtervolging hervat. Het einde van den vijfden dag en dat van den zevenden dag gaven herhalingen van de elevaties te zien. De laatste maal waren deze echter minder algemeen en niet zoo groot als de vorige keeren.

Door een proef met een tweede groep maagdelijke wijfjes werd getracht, een herhaling van het verschijnsel te verkrijgen. Ditmaal werden jongere wijfjes gebruikt. De leeftijd van de wijfjes, waarbij de eerste waarneming werd gedaan, bedroeg zes maanden. Deze tweede groep bestond uit dieren, waarvan

de leeftijd veertien tot zestien weken was. Zij werden onder geheel dezelfde omstandigheden samengebracht met een groot aantal mannetjes, evenwel met één wijziging, die echter geen invloed kon hebben op het gedrag dezer dieren. Het aquarium werd n.l. in een iets grooteren bak geplaatst en wel zoodanig, dat er rondom een tusschenruimte van 10 cm. bleef. Hierin werden eenige andere wijfjes gebracht. Deze waren dus gedwongen om in de buurt van den proefbak te blijven en hadden voortdurend de gebeurtenissen daarin voor oogen. Voor zoover het de dieren in den binnensten bak betreft, was het verloop van de proef geheel gelijk aan dat der eerste waarneming: De wijfjes vertoonden elevaties tegen het einde van den vierden, vijfden en zevenden dag. Er was echter één punt van verschil: geen der elevaties was grooter dan 50 graden.

Van de toeschouwers in den buitensten bak vertoonden er enkelen elevaties evenwel niet gelijktijdig met de dieren in den binnensten bak. *Hiermede was aangetoond, dat het gelijktijdig optreden van elevaties in den binnensten bak niet op imitatie berust.*

Aangezien *Lebistes* reeds gedurende tientallen jaren door duizenden liefhebbers is geobserveerd, ligt de vraag voor de hand, waarom de elevaties niet eerder zijn opgemerkt. Dit laat zich zeer wel verklaren: Vooreerst zal de groote meerderheid dezer liefhebbers de kennismaking met de soort wel begonnen zijn door aanschaffing van een of meer geslachtsrijpe paartjes. In dat geval is het bijna zeker, dat zij drachtige wijfjes in handen kregen en daarbij doet het verschijnsel zich niet voor. De enkelen, die begonnen met het opkweeken van gekochte of gekregen jonge dieren zouden, om het verschijnsel waargenomen te kunnen hebben, wel heel scherp moeten opmerken, daar de wijfjes uiteraard niet gelijktijdig rijp zijn. Degenen die rijpen, worden spoedig bevrucht, waardoor de gelegenheid om de waarneming te doen steeds kleiner wordt.

Tenslotte zal blijken, dat ook de temperatuur van het water een grooten rol speelt. (Hoofdstuk III). Mij is intusschen bekend, dat ervaren fokkers wel degelijk elevaties hebben waargenomen, doch deze toeschreven aan ziekte. De veel voorkomende ovariaalcyستن, die naar mij gebleken is, sterke elevatieverschijnselen kunnen veroorzaken, zullen aan het ontstaan dezer opvatting wel niet vreemd zijn.

### HOOFDSTUK III.

#### ANALYSE VAN HET VERSCHIJNSEL DER ELEVATIE.

Na de hierboven beschreven contrôleproef kon met zekerheid worden aangenomen, dat het synchrone optreden der elevaties een zeer bepaalde oorzaak moest hebben, welke verband hield met de aanwezigheid der mannetjes. Het vermoeden was gewettigd, dat deze oorzaak gelegen zou kunnen zijn in een door de mannetjes uitgescheiden stof. Met behulp van proeven werd getracht, hieromtrent zekerheid te verkrijgen:

Drie groepen, elk van twintig wijfjes (leeftijd veertien tot zestien weken), werden hiertoe respectievelijk gebracht in:

- a) Water, waarin mannetjes hadden gezwommen, die zich omringd zagen door wijfjes. Daartoe waren zij in een geheel glazen bak geplaatst, welke op zijn beurt in een grooteren bak hing, waarin een groot aantal wijfjes zwom. Het water had een temperatuur van  $28^{\circ}$  C. Het aantal mannetjes was zoodanig gekozen, dat er per liter water tien aanwezig waren. Na vierentwintig uur werd het water gefiltreerd en opnieuw op optimale temperatuur gebracht. Daarna werden de wijfjes er in gebracht.
- b) Water, waarin mannetjes (tien per liter water) hadden gezwommen, die geen wijfjes konden zien. De temperatuur was wederom optimaal. Ook hier werden de mannetjes na vierentwintig uur weggevangen. Het water werd gefiltreerd en de optimale temperatuur werd hersteld, vóór de wijfjes in dit water kwamen.
- c) Leidingwater van optimale temperatuur.

De groepen *a*) en *b*) gaven onderling geheel overeenstemmende resultaten: elevaties na drie, vier en zes dagen. Figuur 3 toont het gemiddelde verloop van proef *a*), figuur 6 dat van proef *b*). De figuren 4 en 5 geven de beide gevallen weer, die in proef *a*) het sterkst van het gemiddelde verloop afweken, de figuren 7 en 8 vertoonen de meest afwijkende gevallen in proef *b*) (zie blz. 22).

Dat de drie elevaties telkens een dag eerder optreden dan de overeenkomstige elevaties in de oorspronkelijke waarnemingen,

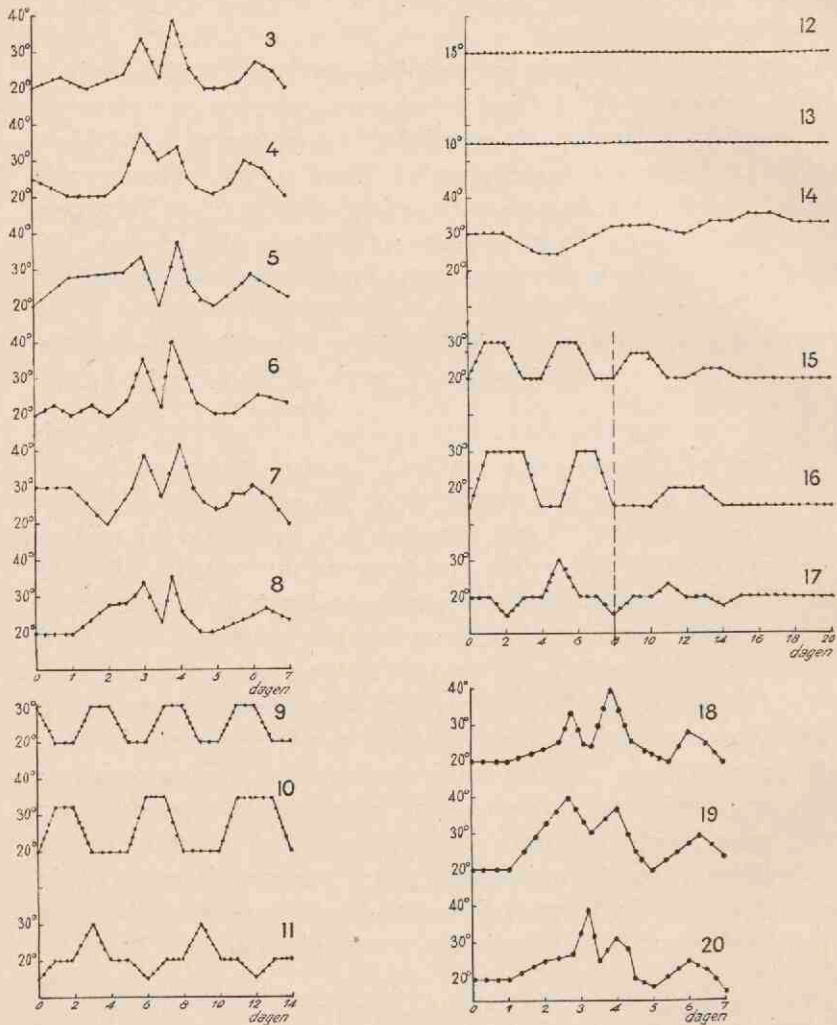


Fig. 3 tot en met fig. 29: Elevatiecurven. Horizontaal is de tijd uitgezet, verticaal de helling van het gedeelte van de wervelkolom, dat tusschen zwemblaas en staartvin gelegen is. De helling werd minstens vier maal daags bepaald. Curven, die een gemiddeld verloop weergeven (fig. 3, 6, 18, 25) zijn ontstaan door het verbinden van de punten, die de gemiddelde waarden van de helling op de betreffende tijden voorstellen. Elk van de overige curven geeft het individueele verloop voor een bepaald dier weer.

Fig. 3: Het gemiddelde verloop voor 20 wijfjes. Autonome cyclus niet onderdrukt. Copuline geproduceerd door mannetjes, die zich door wijfjes omringd zagen.

Fig. 4 en 5: Elevatiecurven voor twee dieren uit proef *a*. Deze beide curven wijken het sterkst af van het gemiddelde verloop (fig. 3).

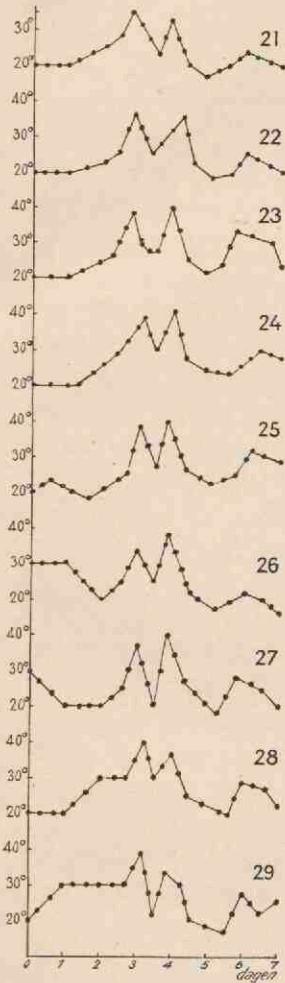


Fig. 25: Copulinehoudend water van 22° C. Cyclus niet vooraf onderdrukt. Gemiddeld verloop voor 40 dieren.

Fig. 26—29: Copulinehoudend water van 22° C. Cyclus niet vooraf onderdrukt. Individuele curven voor vier dieren, die aan het begin van de proef in verschillende fasen van hun individuele autonome cycli verkeerden.

Fig. 6: Het gemiddelde verloop voor 20 wijfjes. Autonome cyclus niet onderdrukt. Copuline geproduceerd door mannetjes, die geen wijfjes konden zien.

Fig. 7 en 8: Elevatiecurven voor twee dieren uit proef *b*. Deze beide curven wijken het sterkst af van het gemiddelde verloop (fig. 6).

Fig. 9: Voorbeeld van een vierdaagschen autonomen cyclus.

Fig. 10: Voorbeeld van een vijfdaagschen autonomen cyclus.

Fig. 11: Voorbeeld van een zesdaagschen autonomen cyclus.

Fig. 12 en 13: De invloed van ondervoeding. Elevaties blijven uit. Geen rijpe eieren.

Fig. 14: De invloed van ondervoeding. Doorlopende elevatie, vermoedelijk tengevolge van de aanwezigheid van rijpe eieren (ovarium groot in verhouding tot het sterk vermagerde lichaam).

Fig. 15, 16 en 17: De onderdrukking van vier-, vijf- en zesdaagsche cycli door temperatuursverlaging na den achtsten dag.

Fig. 18: Het gemiddelde verloop voor 53 dieren tijdens het verblijf in copulinehoudend water van 22° C. Cyclus vooraf onderdrukt.

Fig. 19 en 20: Copulinehoudend water van 22° C. Cyclus vooraf onderdrukt. Deze twee dieren bereikten respectievelijk het eerst en het laatst hun maximale elevatie tijdens de eerste elevatieperiode.

Fig. 21 en 22: Copulinehoudend water van 22° C. Cyclus vooraf onderdrukt. Deze twee dieren bereikten respectievelijk het eerst en het laatst hun maximale elevatie tijdens de tweede elevatieperiode.

Fig. 23 en 24: Copulinehoudend water van 22° C. Cyclus vooraf onderdrukt. Deze twee dieren bereikten respectievelijk het eerst en het laatst hun maximale elevatie tijdens de derde elevatieperiode.

laat zich verklaren. Immers, daar gold het wijfjes, die met mannetjes werden samengebracht in schoon leidingwater, terwijl nu de wijfjes in water kwamen, waarin reeds eenigen tijd mannetjes geleefd hadden. In het eerste geval moest de uitscheiding der veronderstelde stof nog beginnen, in het tweede geval was zij reeds bij het begin van de proef in het water aanwezig. Tevens liet zich nu berekenen, dat in de oorspronkelijke proef tachtig mannetjes nog geen dag noodig hadden, om in tweehonderd liter water een werkzame concentratie te vormen. Tenslotte doen de overeenstemmende resultaten van de proeven *a)* en *b)* vermoeden, dat het voor de uitscheiding van het product geen groot verschil maakt, of de mannetjes al of niet door de aanwezigheid van wijfjes optisch geprikkeld worden.

Proef *c)* gaf in de eerste plaats een bevestiging van de veronderstelling, dat het synchrone optreden der elevaties in de voorgaande proeven aan een product der mannetjes te danken zou zijn. Dergelijke synchroon optredende elevaties bleven hier namelijk uit. Deze proef bracht voorts een nieuwe verrassing, die bestond uit het optreden van minder groote en niet synchrone elevaties. *Het bleek dus, dat de wijfjes ook zonder invloed van mannetjes elevaties vertoonden.*

Uitgebreide proeven met zestig nieuwe dieren bevestigden het bestaan dezer autonome elevaties. Deze zestig dieren werden in afzonderlijke bakjes gebracht, waardoor zij individueel konden worden waargenomen. Overigens waren de voorbereiding en de omstandigheden geheel gelijk aan die van proef *c)*.

Het bleek nu niet alleen, dat al deze dieren autonome elevaties vertoonden, maar tevens, dat elk wijfje daarbij een eigen, individueelen cyclus doorliep, die van vier tot zes dagen duurde. Voorbeelden van vierdaagsche, vijfdaagsche en zesdaagsche cycli vindt men in de figuren 9, 10 en 11 (zie blz. 22).

De figuren 12, 13 en 14 illustreeren den invloed van ondervoeding. Zij hebben betrekking op dieren, die gedurende twee maanden slechts één maal per week gevoederd en dientengevolge sterk vermagerd waren. Het blijkt, dat bij twee dieren de ele-

vaties geheel uitblijven, terwijl bij het derde dier de helling van het lichaam doorlopend ver boven het normale blijft. De beide dieren, waarvoor het verloop is weergegeven in de figuren 12 en 13, bleken geen rijpe eieren te bevatten, het derde dier bevatte er 6.

Uit de hierboven beschreven proeven blijkt, dat er minstens twee oorzaken kunnen worden aangegeven voor het optreden van elevaties bij gezonde, goed doorvoede en maagdelijke wijfjes:

1. Bepaalde, nader te onderzoeken gebeurtenissen tijdens den autonomen cyclus en
2. een door de mannetjes uitgescheiden stof.

#### **Onderdrukking van den autonomen cyclus.**

Wilde ik de werking van deze stof nader onderzoeken, dan diende een weg gevonden te worden, om den autonomen cyclus te onderdrukken. Daarbij was het uiteraard wenschelijk, dat de omstandigheden zooveel mogelijk normaal werden gehouden.

Het groote weerstandsvermogen van *Lebistes* tegen temperatuurschommelingen bracht mij ertoe om te trachten, door afwijking van de optimale temperatuur den autonomen cyclus uit te schakelen. Nu is in het eerste hoofdstuk reeds vermeld, dat verschillende levensverschijnselen van *Lebistes*, zooals de embryonale ontwikkeling, groei en rijping, bij 22° C. weliswaar eenigermate vertraagd worden, doch overigens normaal verlopen.

Zestig wijfjes, waarbij het optreden van den autonomen cyclus reeds was aangetoond, werden in water van 22° C. gebracht, en daarbij over twintig bakjes verdeeld. Reeds spoedig nam de hoogte der elevaties af en ongeveer vijf dagen na het overbrengen in het koudere water was de cyclus zoover onderdrukt, dat de elevaties beneden den drempel van het met mijn methode waarneembare lagen.

De figuren 15, 16 en 17 geven respectievelijk het verloop weer voor dieren met vier-, vijf- en zesdaagsche cycli (pag. 22).

#### **De invloed van het product der mannetjes.**

Van de zestig dieren, waarbij de autonome cyclus was onderdrukt, konden er, door verschillende oorzaken, slechts drieenvijftig voor verdere proefnemingen worden gebruikt. Deze werden nu overgebracht in water, waarin, gedurende vieren-



twintig uur en bij optimale temperatuur, mannetjes waren geweest (tien per liter water). Voor het begin van de proef was dit water gefiltreerd, afgekoeld tot 22° C. en over twintig bakjes verdeeld.

De drieenvijftig wijfjes vertoonden fraai overeenstemmende elevaties, waarvan het gemiddelde verloop is weergegeven in figuur 18 (blz. 22).

Uit de scherpe toppen in deze kromme blijkt reeds, dat de spreiding gering was. Op den eersten top bedroeg de totale spreiding voor drieenvijftig dieren acht uur (fig. 19 en 20, blz. 22). Zondert men de negen dieren met de grootste afwijkingen uit, dan vermindert de spreiding reeds tot twee uur en laat men nogmaals veertien dieren buiten beschouwing, dan hebben de resterende dertig wijfjes nog slechts een spreiding van een half uur.

Op den tweeden top bedroeg de totale spreiding zes uur (fig. 21 en 22, blz. 23), voor negenendertig wijfjes was de spreiding drie uur en voor twintig dieren bedroeg zij een half uur.

Op den derden top was de spreiding grooter: De totale spreiding bedroeg veertien uur (fig. 23 en 24, blz. 23), die voor vijfenveertig dieren acht uur, die voor tweeendertig was vier uur en die voor vierentwintig dieren bedroeg nog één uur.

Alle drieenvijftig krommen verliepen gedurende de eerste vierentwintig uur vlak en begonnen daarna flauw te stijgen. Hieruit kan worden opgemaakt, dat aan de uitwendig zichtbare reactie, die tot uiting komt in drie korte maar geprononceerde elevatie-perioden, een latentieperiode van een etmaal vooraf gaat. Na de drie karakteristieke toppen vertoonden de dieren deels nog kleine, individueele elevaties, die echter van korten duur waren. Na den achtsten dag konden geen elevaties meer worden waargenomen.

Het was nu interessant om te onderzoeken, hoe de dieren zich zouden gedragen, indien de autonome cyclus niet vooraf werd onderdrukt. Hiertoe werden veertig wijfjes, direct na het verblijf in water van 28° C., overgebracht in de proefbakjes (water van 22° C., voorbereiding als tevoren). Het resultaat week in de volgende opzichten af van dat der voorgaande proef:

- 1) De individueele autonome cyclus werd gedurende acht-  
enveertig uur voortgezet.

- 2) De eerste elevatie viel gemiddeld vier uur later.
- 3) De individueele schommelingen na den derden top waren algemeener.
- 4) De spreiding op den derden top was grooter. De totale spreiding bedroeg hier vierentwintig uur, voor vierentwintig dieren bedroeg zij nog acht uur en voor slechts twaalf dieren was zij één uur.

Het gemiddelde verloop voor de veertig proefdieren wordt weergegeven door figuur 25. De figuren 26 tot en met 29 geven het verloop weer voor vier dieren, die zich aan het begin van de proef in verschillende fasen van hun cyclus bevonden.

De volgende conclusies kunnen worden getrokken:

Samenbrengen van maagdelijke *Lebistes* wijfjes met mannetjes in een beperkte ruimte heeft een reactie van de wijfjes tengevolge, die zich uit in drie elevaties.

Daar deze elevaties eveneens optreden indien de wijfjes in water worden gebracht, waarin mannetjes gezwommen hebben, moet de oorzaak van deze reactie worden gezocht in een door de mannetjes uitgescheiden product. Bij optimale temperatuur vormt een mannetje binnen een etmaal een werkzame concentratie.

Deze stof veroorzaakt elevaties bij een temperatuur, waarbij de autonome cyclus niet meer in elevaties tot uiting komt.

Zij is, zoowel bij optimale als bij lagere temperatuur, in staat den autonomen cyclus (respectievelijk zijn nawerking) te onderdrukken.

De geringe concentratie, waarin deze stof reeds werkzaam is en de groote rol, die zij kennelijk speelt in de biologie van *Lebistes*, wettigen het vermoeden, dat zij als een **hormoon** moet worden beschouwd. Aangezien de geringe concentraties waarover ik beschikte een identificatie langs chemischen weg bij voorbaat uitsloten, werd getracht op andere wijze bevestiging van dit vermoeden te verkrijgen.

Uit een mondelinge mededeeling van J. J. Duyvené de Wit was het mij bekend, dat hij in den legbuisgroei van het

vrouwelijke bittervoortje een test-mogelijkheid had gevonden, waarmede hij onderscheiden kan: androgene, oestrogene, progesteron-achtige en corticosteron-achtige hormonen (respectievelijk hun derivaten).

Op mijn verzoek toonde hij zich bereid te onderzoeken:

- a) of de door mij gevonden stof invloed heeft op den legbuisgroei,
- b) of deze stof in een der vier bovengenoemde groepen kan worden ondergebracht.

Het bleek, dat de stof inderdaad een sterke groeireactie van den legbuis veroorzaakt en voorts, dat de vorm der legbuis-groeikromme er op wijst, dat de stof hoogst waarschijnlijk moet worden opgevat als een steroïde uit de pregneen- of uit de pregnaan-reeks.

Ik meen, dat er alle aanleiding bestaat om de nieuwgevonden stof als een hormoon op te vatten. Daar het uiteindelijke resultaat van zijn inwerking bestaat uit het aannemen van den copulatiestand door het wijfje heb ik dit hormoon **Copuline** genoemd.

#### **De invloed van den leeftijd.**

In een voorloopige mededeeling heb ik getracht, een reconstructie te geven van de oorspronkelijke waarneming<sup>1)</sup>.

Sedert is mij gebleken, dat deze reconstructie niet onder alle omstandigheden geldig is. Zij is dit slechts voor jonge, juist-gerijpte wijfjes (drie tot vier en een halve maand oud). Op lateren leeftijd neemt het wijfje weliswaar autonome elevaties aan, doch het vertoont daarbij geen bepaald rythme meer. De autonome cyclus is dus vervaagd. Dit schijnt geleidelijk te gaan. Bij dieren van vijf maanden vond ik nog een interval van zeven tot negen dagen, dieren van zes maanden of ouder vertoonden geenerlei rythme meer. Bovendien waren de rustperioden tusschen de elevatieperioden aanzienlijk verlengd, zoodat zij twee tot vier weken duurden. Eénige invloed mag hierbij worden toegeschreven aan de omstandigheid, dat deze waarnemingen werden gedaan gedurende de donkere wintermaanden, aangezien ook het cyclusinterval voor de jonge dieren iets was verlengd (vijf tot acht, in stede van vier tot zes dagen).

<sup>1)</sup> Zie literatuuropgave.

## HOOFDSTUK IV.

### HET OVARIUM.

De wetmatigheid, die het optreden der elevatie beheerscht, leidt tot het vermoeden, dat het verschijnsel een gevolg is van interne oorzaken. De aard van het verschijnsel der elevatie, dat het karakter van een bronstuiting schijnt te hebben, kan wellicht de richting aangeven, waarin een bevestiging van dit vermoeden gevonden zou kunnen worden. Zou inderdaad de elevatie een bronstuiting zijn, dan zouden er vermoedelijk veranderingen in het ovarium mede gepaard gaan. Deze overweging was voor mij aanleiding om den bouw van en de gebeurtenissen in het ovarium nader te onderzoeken.

#### Ligging van het ovarium.

Het ovarium is achter in de buikholte gelegen. In doorvallend licht kan men zijn omtrekken reeds bij het levende wijfje onderscheiden. Tevens ziet men dan, hoe het achterste deel van de zwemblaas zich over het ovarium welft.

Het ovarium ligt ingesloten tusschen:

- a. den lever,
- b. een compacte, uit twee windingen bestaande, transversaal geplaatste spiraal van den darm, die, samen met den lever, het ovarium aan de voorzijde insluit,
- c. de spiermassa van den lichaamswand, die het ovarium ventraal, caudaal en lateraal insluit (naar von Ihering ontdekte liggen de nieren der vivipare Cyprinodonten niet achter, doch vóór het ovarium),
- d. de zwemblaas, waarvan het achterste deel zich craniaal over het ovarium welft.

Van deze deelen zou de zwemblaas vermoedelijk den minsten weerstand bieden, indien het ovarium in omvang zou toenemen. Nu zou er misschien een samenhang kunnen bestaan tusschen de zwemblaas en de elevatie. Aldus zou er verband kunnen bestaan tusschen ovarium, zwemblaas en elevatie. Deze gedachtengang heeft de richting van mijn verdere onderzoek bepaald.

Dat er een dergelijke relatie tusschen ovarium en elevatie zou kunnen bestaan kan men al vermoeden op grond van de volgende feiten:

1. Bij mannetjes en infantiele wijfjes (welke laatste dus een klein ovarium hebben) is het lichaam, ook in rust, horizontaal.
2. Bij geslachtsrijpe wijfjes met goed functioneerend en niet pathologisch geïnfecteerd ovarium <sup>1)</sup> heeft het lichaam in ruststand minstens een helling van 15 tot 20 graden.
3. Verminderen tijdens de donkere wintermaanden of tengevolge van ondervoeding de relatieve afmetingen van het ovarium, dan vermindert tevens de in sub. 2 genoemde helling.
4. Tegen het einde van de zwangerschap vermeerdert deze helling geleidelijk.

Er diende dus thans te worden nagegaan, of het ovarium inderdaad tijdens de elevatieperioden tijdelijk een abnormaal grooten omvang heeft. Mocht dit inderdaad het geval zijn, dan diende de oorzaak van deze vergrooting te worden gezocht. Een korte histologische beschrijving van het ovarium moge evenwel aan de bespreking der waargenomen verschijnselen voorafgaan.

#### Bouw van het ovarium.

Zoolang de visch niet drachtig is vertoont het ovarium zich als een klompje van min of meer doorzichtige, gele eieren. De middellijn dezer eieren varieert van 1,25 tot ruim 2 m.M. Dit verschil in diameter is geen aanwijzing voor een meerdere of mindere rijpheid, daar alle microscopisch zichtbare eieren reeds volkomen rijp zijn <sup>2)</sup>. De kleinere eieren zijn troebel, de grootere schijnen glashelder te zijn. Beide soorten komen slechts bij uitzondering tegelijkertijd in eenzelfde ovarium voor.

Microscopisch onderzoek leert, dat de ventrale zijde van het ovarium omgeven is door een trechtervormige plooi van den eileider. De wand van het ovarium is met deze plooi vergroeid. In de aanhechtingszone treft men veelal ophooping van het stroma aan, waarin de jonge follikels gelegen zijn. Dergelijke ophooping vindt men ook in het inwendige deel van het ovarium en wel meer speciaal aan de vertakkingen van een kanalen-

<sup>1)</sup> De veelvuldig optredende cysten schijnen door het inkapselen van parasieten te ontstaan.

<sup>2)</sup> De term *rijp* impliceert niet, dat de rijpingsdeelingen reeds zouden hebben plaats gehad, doch slechts dat groei en dooivorming voltooid zijn.

stelsel, dat op het eerste gezicht een voortzetting schijnt te zijn van den eileider. Een deel dezer vertakkingen ontstaat, naar ik bij de bespreking van de getransformeerde follikels hoop aan te toonen, uit gecollabeerde en naar de ovariale holte doorgebroken follikels. Hun aantal neemt met den leeftijd en den groei van het ovarium toe. Het is vooral in deze vertakkingen, dat men de rustende spermatozoën aantreft.

De geheele ovariale holte is bekleed met een epitheellaag. De jongste eieren liggen aanvankelijk onmiddellijk onder de epitheellaag, doch geraken in den regel, tijdens het ontstaan van den follikelwand, dieper in de stroma. Daarbij schijnen zij door het epitheel gevolgd te worden. Men vindt althans bij elken dieper gelegen follikel een vingervormige instulping van het epitheel. Hierdoor behoudt het epitheel het contact met den jongen follikel en wel juist op de plaats, waar zich de micropyle van het ei bevindt. Indien het eitje zeer diep in het stroma ligt vormt de instulping, die overigens de gedaante van een nauw buisje heeft, op deze plaats een wijdere holte. Ligt de follikel minder ver van de epitheellaag, dan vormt de instulping geen verwijding. Ik heb den indruk gekregen, dat de kanaaltjes, die door deze instulpingen worden gevormd, tijdens de later te bespreken zwelling van de eieren, ruimer worden. Wellicht zou dit het binnendringen der spermatozoën vergemakkelijken.

Voor zoover het ovarium niet omgeven is door den eileider, wordt de peripherie ingenomen door rijpe follikels en corpora lutea. Het gebruik van den naam follikel dient hier even toegelicht te worden. Wat met dezen naam wordt aangeduid in het visschenovarium is namelijk niet in alle details gelijk aan de door Fallopio en Coyter ontdekte en door de Graaf beschreven follikel van het zoogdier. Zoo sluiten bij den visch het ei en de follikelwand zonder tusschenruimte aan elkander. Voorts komt bij *Lebistes* geen follikelatresie door woekering van

<sup>1)</sup> Wellicht houdt het feit, dat Schmidt een zoo veel langer interval tusschen de worpen vond dan ik, hiermede verband. Uit het groote aantal embryonen, dat hij gemiddeld verkreeg, maak ik op, dat hij met oude wijfjes werkte, die waarschijnlijk een sterk vertakte ovariale holte hadden. Om redenen, die eerst bij de bespreking der *embryotrophe* duidelijk zullen worden, veronderstel ik verder, dat deze holte relatief weinig van deze *embryotrophe* bevatte, hetgeen de vitaliteit der spermatozoën ongunstig zou kunnen beïnvloeden. Tenslotte blijkt uit Schmidt's eigen onderzoek, dat deze vitaliteit in het meerendeel zijner waarnemingen reeds gering was.

de theca voor. Dat ik den naam hier niettemin gebruik, vindt mijns inziens zijn rechtvaardiging in een reeks van analogien, die er op wijzen, dat de beide organen als homoloog beschouwd mogen worden. In beide gevallen bestaat de follikel uit een ei en een follikelwand, die uit een granulosa en een theca is opgebouwd. Voorts kunnen de beide soorten follikels op geheel analoge wijze veranderen in corpora lutea. Aangezien het ei van *Lebistes* in situ bevrucht wordt, blijft een barsten van den follikel achterwege.

### De eieren.

Doorzoekt men een ovarium (technische gegevens volgen in Hoofdstuk VII) dan kan men in den regel vier generaties van eieren onderscheiden:

De *jongste eieren* treft men aan in het stroma en wel in de onmiddellijke nabijheid van de oergeslachtscellen. Kenmerkend zijn voor deze phase het homogene plasma, de kern, die grooter blijkt te zijn naarmate men oudere stadia van deze phase onderzoekt en de vorming van den follikelwand. Het plasma gedraagt zich bij kleuring acidophiel. Slechts in de naaste omgeving van den kern wordt de homogene plasmamassa onderbroken door een mantel van fijne vacuolen.

Het uitgangspunt voor de vorming van een follikel schijnt te bestaan uit een jong ei en een granulosamoeder cel. Deze laatste vormt door deeling de granulosa, welke tenslotte het ei geheel insluit. De theca, die ontstaat doordat zich een laag bindweefselcellen uit het stroma bij den jongen follikel voegt, is veel eerder voltooid.

De eieren, die *in de tweede phase* verkeerden, zijn gekenmerkt door het optreden van grootere vacuolen aan de peripherie van het ei en door de ontwikkeling van het oolemma. De nieuwe vacuolen leiden de dooivorming in. Deze eieren zijn reeds zoo ver gezwollen, dat zij geen plaats meer vinden in het bindweefselnest, waarin zij oorspronkelijk lagen.

*In de derde phase* wordt de dooier voltooid. Nieuwe, grootere vacuolen treden op, nagenoeg het geheele plasma wordt opgevuld met dooier.

De eieren van *de vierde phase* zijn geheel rijp en kunnen bevrucht worden. De dooiermassa bestaat uit opeengedrongen schollen.

### De relatie tusschen follikel en ei.

In het zoogdierovarium wordt het direkte verband tusschen ei en follikelwand verbroken op het moment, dat de follikel barst en het ei uittreedt. Hun relatie is hiermede echter nog niet beëindigd. Immers, wanneer het ei later, in de uterus gekomen, hier het slijmvlies aantreft in een toestand, die innesteling mogelijk maakt, dan is dit te danken aan de activiteit van den inmiddels tot corpus luteum geworden follikelwand.

Bij *Lebistes* blijft onder alle omstandigheden een direkt verband bestaan tusschen follikelwand en ei. Het groeiende ei wordt allengs door eigen zwelling en door die der nog jongere eieren van zijn plaats gedrongen en belandt tenslotte in de peripherie van het ovarium. Daarbij neemt het den geheelen follikelwand, dus zoowel granulosa als theca, mede. De granulosaacellen vermeerderen zich snel en blijven daardoor het groeiende ei volledig insluiten. De thecaacellen blijven bij dit tempo achter en overdekken tenslotte nog slechts als een ijl netwerk de aaneengesloten granulosaacellen.

Tenzij zich nu uit het geheel een corpus luteum gaat vormen is de verdere rol van den follikelwand niet duidelijk. Zeker is, dat hij als een dun vlies het embryo blijft omgeven. Komt het evenwel tot de vorming van een corpus luteum, dan komen theca en granulosa tot een machtige ontwikkeling.

### Ontwikkeling van het corpus luteum.

Elke follikel van middelbaren leeftijd kan zich tot een corpus luteum ontwikkelen. Deze leeftijd wordt in den regel door de volgende voorwaarden bepaald: eenerzijds moet het ei minstens het tweede ontwikkelingsstadium bereikt hebben, anderzijds mag de dooivorming nog niet geheel voltooid zijn. De transformatie van follikel tot corpus luteum verloopt zeer snel. Alleen daarom al is het gewenscht, duidelijke criteria vast te leggen voor het beoordeelen van de vraag, hoe ver de transformatie gevorderd is. Dankbaar heb ik hierbij de leiding aanvaard van L. H. Bretschneider, van wien eerlang een omvangrijk verslag over een nauw verwant onderzoek tegemoet gezien mag worden. Ik neem de door Bretschneider gebruikte termen en zijn opvatting over de gebeurtenissen over. Bretschneider onderscheidt in de ontwikkeling van het corpus luteum van



het *bittervoortje* vier fasen. Door een uitvoerig onderzoek kon hij bewijzen, dat deze fasen zich inderdaad uit elkander ontwikkelen. Een minder uitvoerig onderzoek gaf mij de zekerheid, dat zijn opvattingen ook van toepassing zijn op de gebeurtenissen in den follikel van *Lebistes* (Hoofdstuk V).

De alpha-phase (fig. 30).

De eerste aanwijzing, dat een follikel tot corpus luteum zal worden, bestaat uit:

- a. de scheiding van den dooier en het vloeibare plasma.
- b. een zwellen van de granulosakernen.
- c. het vervagen van de grenzen tusschen de granulosacellen.

De granulosa wordt tot syncytium.

Hierop volgt een groei der syncytiale massa. Als gevolg daarvan wordt de eimembraan naar binnen gedrukt. De groei der granulosamassa wordt nu op haar beurt gevolgd door een celvorming, deeling en een binnenwoekeren in het ei, nadat de eimembraan doorbroken is. Hierop zet een phagocytose van den dooier door de granulosacellen in. Deze doet den dooier snel minderen.

De bèta-phase (fig. 31).

Deze wordt gekenmerkt door:

- a. een verdere vertering van den dooier,
- b. een secretorische werking van de granulosacellen,
- c. een binnendringen van de theca en bloedvaten.

De binnengedrongen granulosacellen rangschikken zich tot acini en geven in de holten daarvan hun secretieprodukt af. De naam acini is in zooverre verantwoord, dat de holten door klier-cellen omgeven zijn en evenals andere incretorische klieren, geen afvoergang voor het secreet hebben. Kennelijk wordt dit dus afgevoerd door de bloedvaten. Het is aan de hand van mijn preparaten niet met zekerheid uit te maken of de holten volledig door de granulosacellen worden ingesloten, of dat zij misschien plaatselijk direkt aan de bloedvaten grenzen. In het laatste geval zou de naam acini strikt genomen niet mogen worden gebruikt. Hier staat tegenover, dat de capillairen op verschillende plaatsen duidelijk in de granulosacellen verlopen (verg. fig. 31 bij c en fig. 35 bij c). Met de secretie bereikt het corpus luteum zijn bloeistadium, waarin het groote overeenkomst vertoont met het

corpus luteum van een zoogdier. Evenals daar worden de acini gesteund door een netwerk van thecacellen en omsponnen door bloedvaten. Met de secretie gaat de vorming van een gele kleurstof, vermoedelijk luteïne, gepaard. Deze kleurstof hoopt zich op in de granulocellen. Voor de secretie vormt het plasma der granulocellen een homogene massa. Tijdens de secretie vertoont het talrijke groote vacuolen. Na de secretie verdwijnen deze weder, waarbij de cellen zich sterk samentrekken. Deze overeenkomst met de gebeurtenissen in het corpus luteum van het zoogdier doen vermoeden, dat het produkt ook hier een hormoon is. In hoeverre dit hormoon een overeenkomstige rol speelt als het progesteron van het zoogdier, werd evenwel nog niet nader onderzocht. Wel kon reeds worden vastgesteld, dat het corpus luteum in geval van zwangerschap zijn secretorische werking behoudt tot de embryonen eenige dagen oud zijn. In het volgende hoofdstuk zullen overigens eenige feiten worden vermeld, die er op wijzen, dat tusschen het ovarium en de hypophyse van *Lebistes* een relatie bestaat, die een analogie vertoont met een dergelijke relatie bij de zoogdieren.

#### De gamma-phase (fig. 32).

Met het beëindigen van de secretie is de actieve rol van het corpus luteum uitgespeeld. De granulocellen verliezen hun vacuolen en worden dientengevolge kleiner. Theca en bloedvaten blijven doorgroeien en vullen weldra alle holten op. Het corpus luteum verandert daardoor in een dicht bindweefsel, waarin de granulocellen tenslotte nog slechts aan hun luteïneinhoud te onderkennen zijn.

#### De delta-phase (fig. 33).

Op deze gamma-phase volgt een geleidelijke reductie van het corpus luteum. De afmetingen verminderen en de vorm wordt, mede door den druk der omliggende follikels, gewijzigd. Tenslotte zouden de resten nog slechts met moeite te onderkennen zijn, indien hun aanwezigheid niet verraden werd door de opvallende kleur van het luteïne.

Belangwekkend is de wijze, waarop het corpus luteum verdwijnt. *De cellen verliezen hun differentiatie en gaan blijkbaar in het stroma over.* Er zijn namelijk aanvankelijk geen teekenen

van necrose waar te nemen, hoewel het aantal cellen snel vermindert. Een necrose is slechts in de laatste resten van het corpus luteum te zien.

#### De duur der verschillende fasen.

In Hoofdstuk V zal worden aangetoond, dat corpora lutea slechts gedurende bepaalde perioden optreden. Dit geschiedt zoowel tijdens den autonomen cyclus als tijdens de reactie van het maagdelijke wijfje op copuline. In het laatste geval kan men dit optreden regelen. Door een groot aantal wijfjes in copulinehoudend water te brengen en er telkens na een kort interval een te dooden, was ik in staat, het verloop der luteïnisatie te volgen en mij een indruk te verschaffen omtrent den duur der verschillende fasen. Het bleek, dat reeds na twee tot vier uur het gammastadium bereikt wordt. In dien tijd zijn dus zoowel de alpha-phase als de bèta-phase doorlopen. De gamma-phase duurt eveneens slechts enkele uren. Ongeveer zes uur na het begin der alpha-phase is de delta-phase duidelijk ingetreden, hetgeen blijkt uit de vermindering van den omvang der corpora lutea.

Ontstaat het corpus luteum in het verband van den autonomen cyclus, dan verloopt het geheele proces langzamer. Met name geldt dit voor de bèta- en de gamma-phase. Vierentwintig tot achtenveertig uur na het begin der alpha-phase is het secretiestadium nog waar te nemen. Theca en bloedvaten dringen slechts langzaam binnen. Bovendien zijn de bloedvaten kleiner en minder talrijk dan in het corpus luteum, dat zijn ontstaan aan de copulinewerking dankt. Vermoedelijk wordt dus ook het hormoon langzamer, respectievelijk eerst later afgevoerd.

#### Getransformeerde follikels.

Naast de hierboven beschreven luteïnisatie vond ik bij *Lebistes* een tweede soort van follikeltransformatie. Vermoedelijk is dit verschijnsel het eerst waargenomen door Lygnes<sup>1)</sup>. Diens beschrijving is echter, ondanks zijn uitvoerigheid, uiterst vaag en hij was niet in staat om een bevredigende interpretatie der feiten te geven.

Gemakshalve stel ik het hier bedoelde verschijnsel als follikeltransformatie naast de luteïnisatie.

<sup>1)</sup> Zie literatuuropgave.

Deze beide verschijnselen blijken onderling de volgende punten van *overeenkomst* te hebben:

- a. de ontwikkeling begint met het binnendringen van de granulosa in het ei en een phagocytose van den dooier;
- b. hierop volgt een sterke woekering van de theca;
- c. de granulosa krijgt een secretorische functie.

De transformatie *onderscheidt* zich van de luteïnisatie doordat:

1. de granulosa cellen geen netwerk in het ei vormen, doch in een gesloten laag door de theca naar binnen worden gedrongen;
2. de theca niet de granulosa doorwoekert, doch haar met een dikke bindweefsel laag omgeeft;
3. geen luteïne ontstaat en dus ook in een later stadium de gele kleur ontbreekt, die kenmerkend is voor oudere corpora lutea;
4. de voormalige follikelholte niet dicht groeit, doch doorbreekt naar de holte van het ovarium. Het secret der granulosa cellen wordt daarna in de ovariale holte uitgestort, tezamen met eventuele resten van den dooier;
5. het geheel niet te gronde gaat, doch wordt opgenomen in het kanaalsysteem. De voormalige follikel wordt daarvoor een der kanaaltjes van het ovarium (verg. fig. 34 en 39).

Een dergelijke follikeltransformatie vertoont de volgende fasen:

- I. Zwelling der granulosa kernen.
- II. Groei der granulosa cellen.
- III. Sterke groei der theca, waardoor een dikke laag ontstaat en de granulosa in de follikelholte wordt gedrongen. Tegelijkertijd dringen talrijke bloedvaten binnen.
- IV. Differentiatie der granulosa cellen.  
Vacuolevorming in een deel der granulosa cellen en begin der secretie.  
Andere granulosa cellen krijgen een knotsvorm en dragen capillairen.
- V. Doorbraak van den follikel naar de ovariale holte, door aansluiting van de granulosa bij het ingestulpte epitheel van den ovariaalwand; voortzetting der secretie, uitstorten van het secret.

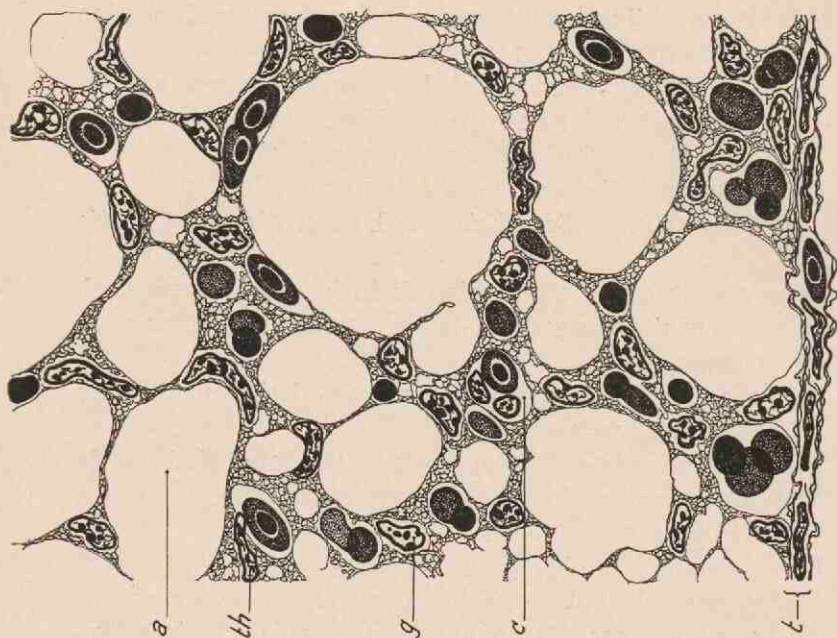


Fig. 31. Detail van een corpus luteum in de bèta-phase.

*a.* acinus.  
*c.* capillair bloedvat in een granulosaacel.  
*t.* theca.

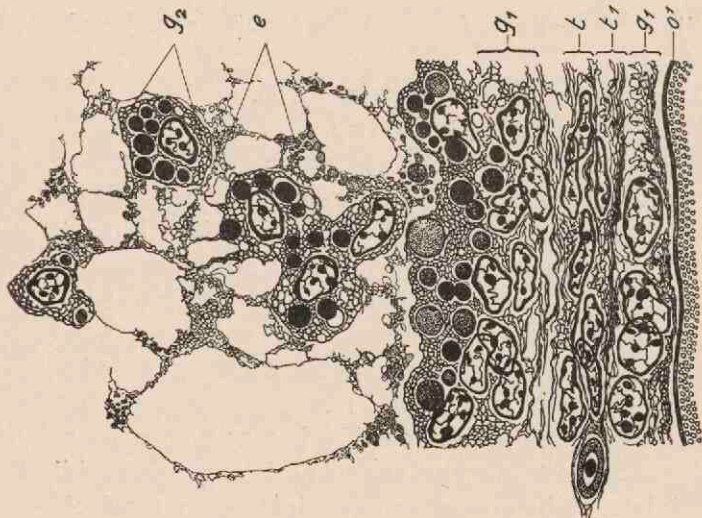


Fig. 30. Detail van een corpus luteum in de alpha-phase.

*o<sub>1</sub>*. oolemma van een aangrenzende follikel.

*g<sub>1</sub>*. granulosa van idem.

*t<sub>1</sub>*. theca van idem.

*g<sub>1</sub>*. granulosa van idem.

*g<sub>2</sub>*. binnengedrongen granulosaacel met dooiergranula.  
*e.* eiplasma.

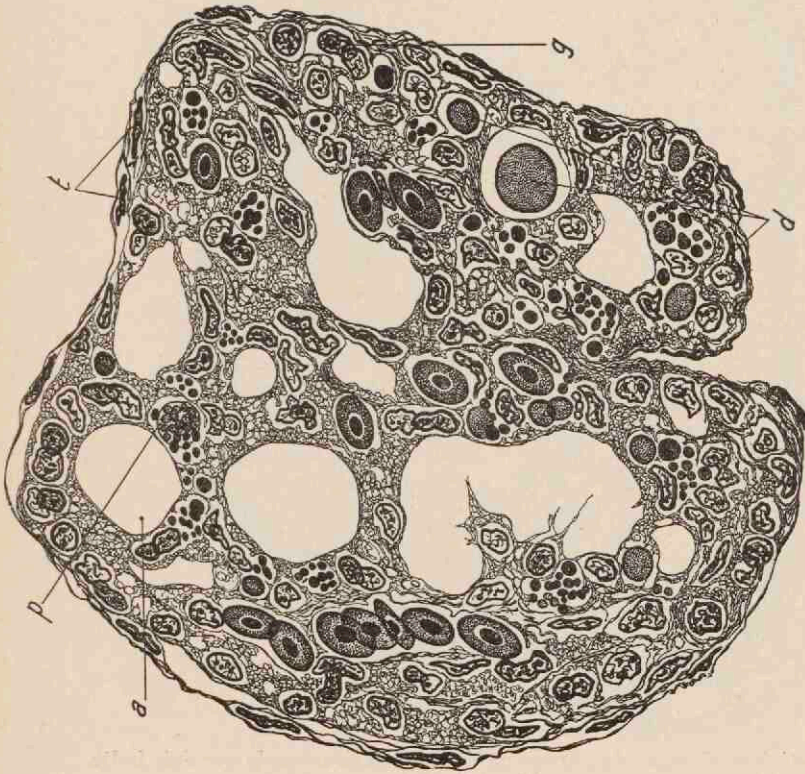


Fig. 32. Coupe door een corpus luteum in de gamma-phase.

- a. rest van een acinus.
- d. Resten van den dooier.
- g. Granulosa.
- p. pigment.
- t. -theca.

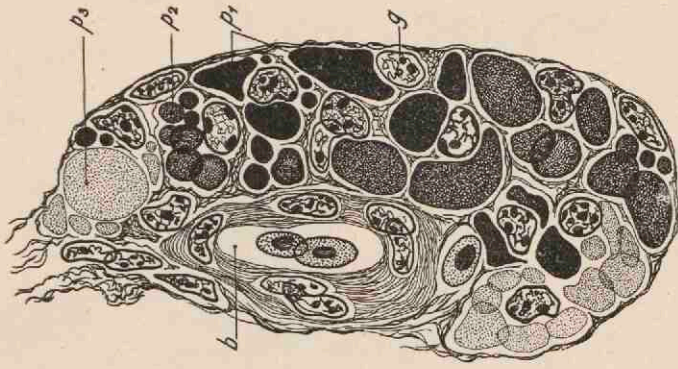


Fig. 33. Coupe door een corpus luteum in de delta-phase.

- b. bloedvat.
- g. granulosacel.
- p<sub>1</sub>, p<sub>2</sub> en p<sub>3</sub>. pigment. (p<sub>1</sub> en p<sub>2</sub> nieuw gevormd, p<sub>3</sub> reeds verkleurd.)

Ten tijde van de doorbraak zijn in de granulosa drie celtypen te onderscheiden:

*Het eerste type* bestaat uit niet of weinig gedifferentieerde cellen met groote, blaasvormige kernen en een homogeen protoplasma. In het plasma liggen veelal dooierresten, die verder verteerd worden. Mogelijk ontstaat uit dit eerste type het tweede (fig. 35).

*Dit tweede type* is gekenmerkt door het ontstaan van meerdere kleine, blaasvormige holten, die blijkbaar gevuld zijn met een waterrijk secreet. Later vereenigen deze holten zich tot een groote blaas. In het gefixeerde preparaat bevat deze grove, eiwitachtige uitvlokkingen. Het secreet schijnt te worden uitgestooten (fig. 35 g 2, g 3 en g 4).

*Het derde type* wordt vertegenwoordigd door de capillairdragende granuloscacellen. Hierbij doet zich het merkwaardige verschijnsel voor, dat de capillairen, die oorspronkelijk in de theca ontstaan, het basaalmembraan van de granulosa doorbreken en zich in de betreffende granuloscacellen nestelen. Deze cellen strekken zich ver in de follikelholte uit en krijgen daarbij een opvallenden knotsvorm. Dientengevolge komen de capillairen bijna geheel vrij in de follikelholte te liggen. Aangezien de holte later deel uitmaakt van de ovariale holte is de waarschijnlijkheid groot, dat in de toekomst langs dezen weg zuurstof kan worden aangevoerd voor de embryonen (fig. 35 c).

De doorbraak komt tot stand doordat de granulosa zich ter hoogte van de micropyle aansluit bij het ingestulpte epitheel van de ovariale holte. Hierop collabeert de follikel, evenwel niet volkomen. De voormalige follikelholte wordt in den loop van enkele uren een nauw kanaal. De wand, die aanvankelijk onregelmatige plooien vertoont, krijgt alsdan een regelmatiger verloop. Doordat tevens de instulping van het ovariale epitheel zich verwijdt is de voormalige follikel na enkele uren nog slechts door de werkzaamheid der granuloscacellen en door den dikken stromamantel (de voormalige theca) van de oudere vertakkingen der ovariale holte te onderscheiden (fig. 39).

Het secretieprodukt der granulosa moet in dit geval waarschijnlijk worden opgevat als een *embryotrophe*. In Hoofdstuk

V zal blijken, dat de getransformeerde follikels alleen ontstaan tijdens de elevatieperioden, die optreden tijdens de reactie van het wijfje op copuline. Wellicht zal mettertijd blijken, dat ook andere hormonen deze uitwerking hebben. Voor het oogenblik is echter vooral het feit, dat ik ze niet zag ontstaan tijdens de elevatieperioden van den autonomen cyclus, belangrijk. Wel kon ik daar een dergelijke secretie waarnemen in de epitheelcellen van de ovariale holte. Aangezien dit epitheel althans voor een groot deel ontstaan is uit voormalige granulosa-cellen, is dit laatste geen verrassing.

Nu beteekent echter de transformatie van een aantal follikels een aanzienlijke vergrooting van het oppervlak en daarmee van de secretie van den ovariumwand. De vraag zal dus rijzen, of de secretie voldoende zal zijn, indien er geen follikels getransformeerd worden. Men kan zich namelijk voorstellen, dat een wijfje bevrucht wordt tijdens een elevatieperiode van den autonomen cyclus. Er zijn dan geen getransformeerde follikels, waardoor de secretie gering zou zijn. Is de uitgescheiden massa inderdaad een embryotrophe, dan zou de ontwikkeling der embryonen hierdoor in gevaar kunnen komen. In hoeverre dit het geval is, zal eerst kunnen worden uitgemaakt door een uitvoerige studie der embryonale ontwikkeling. Intusschen meen ik te mogen aannemen, dat het voortbestaan der soort hierdoor niet bedreigd zou worden. Guppy's waarnemingen (Trinidad) en de mijne (Batavia) toonen dat *Lebistes* normaliter leeft in kleine binnenwatertjes, die periodiek tot kleine poeltjes indampen. De groote menigte mannetjes, die men in zulke poeltjes aantreft, handhaaft daarin gemakkelijk een voldoende concentratie van werkzaam copuline, om follikeltransformaties te veroorzaken.

De veronderstelling, dat het secreet een embryotrophe is, vindt steun in de volgende feiten:

1. Het bestaat goeddeels uit eiwit.
2. Ten Cate Hoedemaker vond bij *Mustelis laevis* een embryotrophe, die op een dergelijke wijze wordt uitgescheiden <sup>1)</sup>.
3. Bretschneider vond haar bij *Zoarcas viviparus* (niet gepubliceerd).

---

<sup>1)</sup> Zie literatuuropgave.



4. De uitscheiding wordt gedurende de eerste dagen van de zwangerschap voortgezet.
5. Zij begint in de elevatieperioden en kan daarom worden opgevat als een der voorbereidende verschijnselen van de zwangerschap, dus als bronstuiting.

Op grond van deze feiten neem ik aan, dat het secreet inderdaad een embryotrophe is. Daarnaast verschaft het wellicht den opgenomen spermatozoën een gunstig milieu.

## HOOFDSTUK V.

### HET ONDERLINGE VERBAND DER VERSCHIJSSELEN.

Het onderzoek naar de gebeurtenissen in het ovarium werd ingesteld met het doel, een nader inzicht te verkrijgen in de oorzaak van het optreden der elevaties. Nu is er onder de waargenomen verschijnselen één, dat daarmede in direct verband zou kunnen staan. Dit verschijnsel is het verschil in grootte, dat de rijpe eieren onderling vertoonen. In hoofdstuk IV is reeds vermeld, dat de diameter van zulk een rijp ei in sommige gevallen slechts 1,25 m.M. bedraagt, doch in andere gevallen een lengte van twee m.M. kan overschrijden. In het laatste geval is de inhoud van het ei dus ruim vier maal zoo groot als in het eerste geval. De beide typen komen slechts bij uitzondering naast elkander in hetzelfde ovarium voor. Als regel bevat een ovarium namelijk slechts rijpe eieren van één type. Dit zou verklaard kunnen worden door de veronderstelling, dat het verschil in grootte veroorzaakt wordt door een verschil in individueelen aanleg van de wijfjes. Waarschijnlijk lijkt zulks echter niet. In de eerste plaats loopt de inhoud der eieren daarvoor wel wat ver uiteen. In de tweede plaats schijnt er verband te bestaan tusschen de afmetingen van het ei en de consistentie van den dooier. Groote eieren hebben namelijk een glashelder inhoud, terwijl die der kleine eieren min of meer troebel is. Beslissend scheen mij echter het feit, dat ik de groote eieren slechts aantrof bij wijfjes, die in een elevatieperiode verkeerden en de kleine eieren bij wijfjes, die geen elevatie vertoonden. Aanvankelijk was dit slechts een voorloopige indruk, die ik mij op grond van incidenteele waarnemingen had gevormd. Zou deze indruk bevestigd worden, dan zou hij, naar ik meende, een rhytmisch zwellen en slinken van de eieren impliceren.

#### **Zwelling en elevatie.**

In de eerste plaats werd nu getracht, om het verband tusschen deze beide verschijnselen aan te toonen bij dieren, die niet onder invloed van copuline of eenigerlei ander toegevoegd hormoon stonden. Voor zoover zij elevaties vertoonden traden deze dus op in het verband van den autonomen cyclus. Van 138 wijfjes, die ik onderzocht nadat zij in een elevatie-

periode waren gedood, vertoonden er 12 talrijke ovariaalcysten. Daarnaast bevatten zij enkele kleine, rijpe eieren. Aangezien deze cystenvorming op een pathologische infectie schijnt te berusten, liet ik deze 12 dieren verder buiten beschouwing. De eieren van de resterende 126 wijfjes werden met behulp van een object-micrometer gemeten. Bij het beoordeelen van de vraag, of de eieren al of niet gezwollen waren, gebruikte ik de volgende criteria:

Eieren met een diameter van minstens 1,5 m.M. en een helderen inhoud werden geacht, gezwollen te zijn.

Eieren, die een diameter van minder dan 1,5 m.M. hadden en waarvan de inhoud een troebelen indruk maakte, werden geacht niet gezwollen te zijn.

Van deze 126 dieren bleken alle eieren gezwollen te zijn.

228 dieren werden gedood in een periode, waarin zij geen elevatie vertoonden. Hiervan bevatten er 13 enkele gezwollen eieren. Het aantal dezer gezwollen eieren was echter steeds relatief klein en er kwamen steeds, naast de gezwollen eieren, een aantal voor, die niet gezwollen waren. Het hoogste percentage gezwollen eieren, dat onder deze omstandigheden werd gevonden, bedroeg vijftig procent, namelijk vier gezwollen eieren naast vier kleine.

De overgrootste meerderheid (215 dieren of ruim 95 %) der dieren bevatte uitsluitend niet-gezwollen eieren.

Al deze metingen waren uiteraard gedaan aan dieren, die bij optimale temperatuur hadden geleefd en een duidelijken autonomen cyclus vertoonden.

Bij dertig dieren, die geruimen tijd bij een temperatuur van 22° C. hadden geleefd en die dientengevolge geen elevaties meer vertoonden, werden geen gezwollen eieren aangetroffen.

Uit deze resultaten valt op te maken, dat elevaties, die in het verband van den autonomen cyclus optreden, samengaan met een zwellung der eieren en dat buiten de elevatieperioden normaliter geen gezwollen eieren voorkomen.

Tellingen en metingen van rijpe eieren, jonge eieren, stroma-complexen en de ovariale holte toonden, dat een zwellung, die de

rijpe eieren een viervoudig volume geeft, den inhoud van het ovarium minstens verdubbelt. Hierdoor moet de druk op het achterste deel van de zwemblaas toenemen. *Met een groote mate van waarschijnlijkheid kan hieruit worden opgemaakt, dat de zwelling der eieren een proximale verplaatsing van de gasmassa in de zwemblaas veroorzaakt, die op haar beurt de elevatie tot stand doet komen.*

Dat ook de elevaties, die kenmerkend zijn voor de reactie van het wijfje op copuline, samengaan met een zwelling der eieren werd door metingen aan 120 dieren aangetoond. Vijf tot zes uur vóór de elevatie haar grootste waarde bereikt zijn de eieren zoo ver gezwollen, dat aan de hierboven gestelde criteria wordt voldaan. *Deze zwelling houdt ongeveer 12 uur aan, met andere woorden tot een tijdstip, waarop de elevatie reeds geheel of nagenoeg verdwenen is* (Tabel II). Gedurende de overige fasen van de reactie zijn de eieren niet gezwollen. Hieruit mag worden besloten, dat het optreden der elevaties ook hier wordt veroorzaakt door de zwelling der eieren. Het verdwijnen der elevatie mag in dit geval echter niet worden toegeschreven aan een slinken der eieren, doch moet een andere oorzaak hebben.

Zijn deze veronderstellingen juist, dan dient zoo mogelijk de oorzaak van de zwelling gevonden te worden en voorts de oorzaak van het verdwijnen der elevaties tijdens de copulinereactie. Bovendien bestaat de mogelijkheid, dat nog andere gebeurtenissen een rol spelen bij het tot stand komen der elevaties.

### **Corpus luteum en elevatie.**

Reeds tijdens de hierboven beschreven tellingen kreeg ik den indruk, dat ook het optreden van corpora lutea samenvallen zou met dat der elevaties. Deze indruk werd bevestigd door het volgende onderzoek:

Dertig jonge, maagdelijke wijfjes (leeftijd  $3\frac{1}{2}$  tot  $4\frac{1}{2}$  maand) werden gedurende vijftien dagen geobserveerd bij optimale temperatuur. Van ieder dier werd de duur van den autonomen cyclus vastgesteld. Veertien dieren hadden een vierdaagschen cyclus, elf hadden een vijfdaagschen cyclus en vijf hadden een zesdaagschen cyclus.

Deze dieren werden nu in verschillende fasen van den cyclus gedood. Daarbij werd als eerste dag aangenomen de dag, waarop krachtens de voorafgaande waarnemingen het inzetten van de

elevatie mocht worden verwacht. Van ieder dier werd nu nagegaan:

- a. hoeveel corpora lutea het bevatte.
- b. in welk ontwikkelingsstadium deze corpora lutea verkeerden.
- c. of de rijpe eieren al of niet gezwollen waren.

De resultaten dezer waarnemingen zijn vereenigd in tabel I.

TABEL I.

## Luteïnisatie tijdens den autonomen cyclus.

Nummer	Cyclus	Tijdstip van waarneming	Zwelling	Alpha-c.l.	Bêta-c.l.	Gamma-c.l.	Necrotische resten.
1	4 d	begin 1. dag	geen	—	—	—	
2	4 d	id.	id.	—	—	—	
3	4 d	einde 1. dag	aanwezig	3			
4	4 d	id.	id.	1	3		
5	4 d	id.	id.	2	1		
6	4 d	begin 2. dag	id.		4		
7	4 d	id.	id.	1	4		
8	4 d	id.	id.		2	2	
9	4 d	einde 2. dag	id.			3	
10	4 d	id.	?			4	
11	4 d	begin 3. dag	geen			4	
12	4 d	id.	id.			3	
13	4 d	einde 3. dag	id.			4	
14	4 d	4. dag	id.				5
15	5 d	begin 1. dag	id.	—	—	—	
16	5 d	einde 1. dag	aanwezig	5			
17	5 d	begin 2. dag	id.		4		
18	5 d	einde 2. dag	id.		5		
19	5 d	begin 3. dag	id.		2	2	
20	5 d	einde 3. dag	geen			3	
21	5 d	begin 4. dag	id.			2	2
22	5 d	einde 4. dag	id.			1	3
23	5 d	begin 5. dag	id.				5
24	5 d	einde 5. dag	id.				3
25	5 d	id.	id.				2
26	6 d	begin 2. dag	aanwezig	2	4		
27	6 d	begin 3. dag	geen		1	4	
28	6 d	begin 4. dag	id.			3	
29	6 d	begin 5. dag	id.			2	3
30	6 d	begin 6. dag	id.				5

Opmerkelijk is, dat bij 27 dieren in totaal slechts 109 corpora lutea werden geteld, hetgeen neerkomt op een gemiddeld aantal van vier. Voorts waren deze corpora lutea klein en kennelijk ontstaan uit betrekkelijk jonge follikels.

In Hoofdstuk III werd reeds vermeld, dat de regelmatige cyclus slechts bij jonge, juist gerijpte wijfjes kan worden waargenomen. Op lateren leeftijd verdwijnt het rythme en treden de elevaties minder veelvuldig op. Ook hier kon, door een gelijksoortig onderzoek aan twintig dieren, worden vastgesteld, dat jonge corpora lutea slechts worden aangetroffen gedurende een korte periode die begint tegen den tijd, waarop de elevatie haar hoogste waarde bereikt en eindigt op een tijdstip, dat één tot twee dagen later valt. Rekent men dat de cyclus begint met het zwellen der eieren, dan komen oudere corpora lutea (gamma-phase) van den tweeden of derden dag af voor. Den vierden dag werden de eerste necrotische resten aangetroffen. Algemeen treden zij eerst den vijfden dag op.

Van de dertig dieren, waarbij de autonome cyclus onderdrukt was (pag. 46), bevatten er twee ieder één corpus luteum, dat in de secretiephase verkeerde. Een ouder corpus luteum (gamma-phase) werd aangetroffen bij één dier. Verder kwamen bij deze dieren geen corpora lutea voor. Necrotische resten werden aangetroffen bij zes dieren.

De luteïnisatie blijkt dus beperkt te zijn tot de elevatieperioden van den autonomen cyclus. Een oorzakelijk verband tusschen luteïnisatie en elevatie is echter nog niet gebleken. Dat de luteïnisatie een der direkte oorzaken van de elevatie zou zijn is niet waarschijnlijk, daar zij eerder een volume-vermindering dan een volumevermeerdering van het ovarium beteekent. Het is echter mogelijk, dat de eizwelling een inleidende phase van de luteïnisatie is. In dit geval zouden dus alle eieren zwellen, doch tenslotte zou slechts een gedeelte daarvan luteïniseeren.

#### **Optreden van corpora lutea tengevolge van de inwerking van copuline.**

Tachtig wijfjes werden, na een verblijf in water van optimale temperatuur, in copulinehoudend water gebracht. De temperatuur van dit water was eveneens optimaal. Deze dieren werden achtereenvolgens gedood en wel: het eerste dier na

TABEL II.

Luteïnisatie tijdens de inwerking van copuline bij 28° C.

Num- mer	Inwer- king	Zwel- ling	a-jong b	b	c	d	Rijpe eieren	Jonge eieren
1	2 d 18 u	+	—	—	—	+	6	18
2	2 d 18 $\frac{1}{4}$ u	+	—	—	—		8	31
3	2 d 18 $\frac{1}{2}$ u	—	—	—	—	+	4	11
4	2 d 18 $\frac{3}{4}$ u	+	—	—	—	+	12	34
5	2 d 19 u	+	—	—	—		9	24
6	2 d 19 $\frac{1}{4}$ u	+	—	—	—		6	23
7	2 d 19 $\frac{1}{2}$ u	+	—	—	—		7	16
8	2 d 19 $\frac{3}{4}$ u	+	—	—	—	+	6	20
9	2 d 20 u	—	—	—	—		3	16
10	2 d 20 $\frac{1}{4}$ u	+	—	—	—		11	29
11	2 d 20 $\frac{1}{2}$ u	+	—	—	—		8	37
12	2 d 20 $\frac{3}{4}$ u	+	—	—	—		6	22
13	2 d 21 u	+	5	—	—		8	38
14	2 d 21 $\frac{1}{4}$ u	+	—	—	—		4	19
15	2 d 21 $\frac{1}{2}$ u	+	3	—	—		8	26
16	2 d 21 $\frac{3}{4}$ u	+	—	8	—		7	21
17	2 d 22 u	+	2	4	—		10	26
18	2 d 22 $\frac{1}{4}$ u	+	5	9	—		16	13
19	2 d 22 $\frac{1}{2}$ u	+	2	7	2		14	25
20	2 d 22 $\frac{3}{4}$ u	+	—	8	1		8	23
21	2 d 23 u	+	—	5	2		8	18
22	2 d 23 $\frac{1}{4}$ u	+	1	—	9		12	29
23	2 d 23 $\frac{1}{2}$ u	+	—	7	1		9	12
24	2 d 23 $\frac{3}{4}$ u	+	—	5	8		15	28
25	3 d — u	+	—	1	9		13	19
26	3 d $\frac{1}{4}$ u	+	—	2	7		10	19
27	3 d $\frac{1}{2}$ u	+	—	—	7		8	16
28	3 d $\frac{3}{4}$ u	+	—	—	12	+	13	28
29	3 d 1 u	+	—	—	8	+	6	15
30	3 d 1 $\frac{1}{4}$ u	+	—	—	14	+	16	30
31	3 d 1 $\frac{1}{2}$ u	+	—	—	—	+	4	11
32	3 d 1 $\frac{3}{4}$ u	+	—	—	6	+	8	21
33	3 d 2 u	+	—	—	9	+	8	25
34	3 d 2 $\frac{1}{4}$ u	+	—	—	5	+	7	18
35	3 d 2 $\frac{1}{2}$ u	—	—	—	3	+	7	15
36	3 d 2 $\frac{3}{4}$ u	+	—	—	8	+	10	34
37	3 d 3 u	+	—	—	8	+	8	27
38	3 d 4 u	—	—	—	5	+	6	24
39	3 d 5 u	+	—	—	—	+	13	30

Num- mer	Inwer- king	Zwel- ling	a-jong b	b	c	d	Rijpe eieren	Jonge eieren
40	3 d 6 u	—	—	—	—	+	8	21
41	3 d 7 u	—	—	—	—	+	12	26
42	3 d 8 u	—	—	—	—	+	7	22
43	3 d 9 u	—	—	—	—		9	31
44	3 d 10 u	—	—	—	—		8	34
45	3 d 11 u	—	—	—	—	+	13	39
46	3 d 12 u	—	3	1	—		15	34
47	3 d 13 u	—	1	2	1		8	23
48	3 d 14 u	—	—	1	2	+	16	30
49	3 d 15 u	—	—	—	2		6	14
50	3 d 16 u	—	—	—	—		12	19
51	3 d 17 u	+	—	—	—		9	25
52	3 d 18 u	—	—	—	—		6	15
53	3 d 19 u	+	—	—	—		10	23
54	3 d 20 u	+	—	—	—		8	27
55	3 d 21 u	+	—	6	3		11	30
56	3 d 21 $\frac{1}{4}$ u	+	—	10	5		14	16
57	3 d 21 $\frac{1}{2}$ u	+	4	1	1		7	18
58	3 d 21 $\frac{3}{4}$ u	+	5	2	1		10	17
59	3 d 22 u	+	5	4	4		12	13
60	3 d 22 $\frac{1}{4}$ u	+	—	6	3		10	21
61	3 d 22 $\frac{1}{2}$ u	+	2	9	4		16	25
62	3 d 22 $\frac{3}{4}$ u	+	—	13	3		12	18
63	3 d 23 u	+	—	—	8		6	12
64	3 d 23 $\frac{1}{4}$ u	+	—	—	—		3	7
65	3 d 23 $\frac{1}{2}$ u	+	—	9	—		12	13
66	3 d 23 $\frac{3}{4}$ u	+	2	3	3		8	19
67	4 d — u	+	—	—	10		11	17
68	4 d $\frac{1}{4}$ u	+	—	—	7		8	16
69	4 d $\frac{1}{2}$ u	+	—	5	—		7	15
70	4 d $\frac{3}{4}$ u	+	—	—	9		11	19
71	4 d 1 u	—	—	—	6	+	8	14
72	4 d 1 $\frac{1}{4}$ u	+	—	—	4	+	8	16
73	4 d 1 $\frac{1}{2}$ u	+	—	—	11	+	14	24
74	4 d 1 $\frac{3}{4}$ u	+	—	—	8	+	5	12
75	4 d 2 u	+	—	—	—	+	8	16
76	4 d 3 u	+	—	—	—	+	10	19
77	4 d 4 u	+	—	—	—	—	7	21
78	4 d 5 u	+	—	—	—	+	11	30
79	4 d 6 u	—	—	—	—	+	8	34
80	4 d 7 u	—	—	—	—	+	6	23



66 uur en het laatste na 104 uur. De tachtig wijfjes werden dus gedood in de periode, die de beide eerste elevatieperioden omvat van het drietal, dat kenmerkend is voor de reactie op copulinehoudend water.

Het interval waarmede de dieren werden gedood was tijdens de elevatieperioden een kwartier en tijdens de perioden, waarin weinig corpora lutea konden worden verwacht, een uur. (Verg. tabel II).

Nadat een eventueele zwelling was genoteerd werden de ovaria in doorvallend en in opvallend licht doorzocht. (De technische gegevens vindt men in hoofdstuk VII).

Afzonderlijk werden daarbij geteld:

Corpora lutea in de alpha-phase (4e kolom),  
 Corpora lutea in de bèta-phase (4e en 5e kolom),  
 Corpora lutea in de gamma-phase (6e kolom),  
 rijpe eieren en  
 jonge eieren.

De verschillende gegevens zijn in tabel II verzameld.

Uit dit overzicht blijkt vooreerst, dat binnen het beschouwde tijdvak het optreden van corpora lutea beperkt is tot drie korte perioden. Twee dezer perioden, namelijk de eerste en de derde, vallen ongeveer samen met de elevatieperioden na den derden en den vierden dag. Het meerendeel der corpora lutea heeft de secretiephase bereikt, vóór de elevatie haar maximum bereikt (resp. na 3 dagen en 0 uur en drie dagen en 22 uur). De tweede luteïnisatieperiode valt omstreeks 12 uur na de eerste elevatieperiode.

Voor ieder dier werd nu de som van alle eieren en corpora lutea bepaald en vervolgens werd berekend, welk percentage van dit totaal voor rekening van elk der soorten van corpora lutea kwam.

Figuur 37 toont hoe de verschillende fasen elkander gedurende de tweede luteïnisatieperiode opvolgen.

De figuren 36 en 38 geven dergelijke beelden voor de eerste en de derde luteïnisatieperiode. Daar hier meer gegevens ter beschikking stonden, konden de frequentiecurven voor het optreden van jonge (alpha en bèta) en oude (gamma) corpora lutea geteekend worden (alpha- en bèta-fasen zijn hier dus voor ieder dier samengeteld).

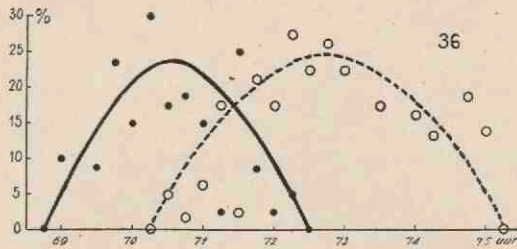


Fig. 36. Optreden van corpora lutea van 68 uur tot 76 uur na het overbrengen in copulinehoudend water.

— Frequentiecurve voor jonge corpora lutea (alpha- en bèta-fasen).  
 - - - idem voor oudere corpora lutea (gamma-phase).

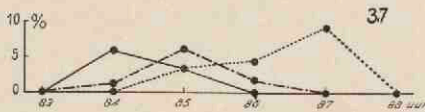


Fig. 37. Optreden van corpora lutea van 83 uur tot 88 uur na het overbrengen in copulinehoudend water.

— alpha-phase.  
 - - - bèta-phase.  
 ..... gamma-phase.

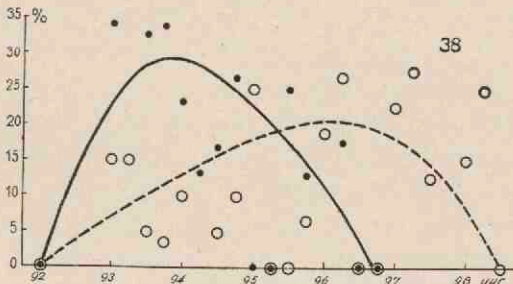


Fig. 38. Optreden van corpora lutea van 92 uur tot 98½ uur na het overbrengen in copulinehoudend water.

— Frequentiecurve voor jonge corpora lutea (alpha- en bèta-fasen).  
 - - - idem voor oudere corpora lutea (gamma-phase).

Tabel en cürven bewijzen dat:

- a. de ontwikkeling der corpora lutea ongeveer drie uur voor het bereiken van de hoogste elevatie begint.
- b. bij het bereiken van den hoogsten elevatiestand de corpora lutea het hoogtepunt van de secretie reeds hebben bereikt.
- c. omstreeks of kort na het bereiken van de hoogste elevatie de actieve rol der corpora lutea eindigt.
- d. de gamma-phase reeds binnen enkele uren overgaat in een degeneratie.
- e. het aantal corpora lutea gedurende de eerste en tweede elevatieperiode van de copulinereactie aanzienlijk grooter is dan het aantal, dat tijdens den autonomen cyclus optreedt.
- f. ongeveer midden tusschen de beide eerste elevatieperioden een gering aantal corpora lutea optreedt, zonder dat daarmee een elevatie gepaard gaat. *Hierbij dient in het oog te worden gehouden, dat slechts hellingen van minstens 25 graden als elevaties werden genoteerd.*

Daar het hierboven beschreven onderzoek slechts een inzicht gaf in de gebeurtenissen tijdens een deel van de reactieperiode, was het gewenscht een nieuw onderzoek in te stellen, dat zich over de volle 6 dagen uitstreckte.

Ditmaal gebruikte ik in totaal 108 dieren, verdeeld over twee series. De eerste, uit zestig dieren bestaande, serie diende om een algemeen overzicht over de gebeurtenissen gedurende de volle zes dagen te verkrijgen. Hiertoe werd om de vier uur een wijfje gedood. Tijdens de drie elevatieperioden werd dit interval verkort tot een uur. De tweede serie, die dus uit achtenveertig dieren bestond, kwam eerst eenige weken later aan de beurt, toen gebleken was, dat op bepaalde punten in mijn reeks van waarnemingen interpolaties noodig waren. Van ieder wijfje werden het ovarium en de kop gefixeerd, ingesloten en in coupes van  $7\frac{1}{2}$   $\mu$  gesneden. (De techniek vindt men in hoofdstuk VII vermeld.) Van de ovaria werd elke tiende coupe gekleurd. Necrotische resten van corpora lutea konden daardoor weliswaar aan de waarneming ontsnappen, doch voor de jongere fasen was dit practisch uitgesloten. Mocht het geval zich niettemin voordoen, dan was hiermede nog niet veel verloren, daar het mij ditmaal in hoofdzaak om de kwalitatieve gegevens te doen was. Het aantal corpora lutea van elk der drie fasen (alpha-, bèta- en gamma-phase) werd daarom slechts aangeduid als „weinig”

TABEL III.

## Luteïnisatie en follikeltransformatie bij 28° C.

Cyclus niet onderdrukt.

De hoogste elevaties worden gemiddeld na 72 uur, 94 uur en 144 uur bereikt.

Verblijf in copuline	c.l. alpha-phase	c.l. bèta-phase	c.l. gamma-phase	Getransf. follikels
3 uur	—	×	—	—
4 uur	—	—	—	—
6 uur	—	—	×	—
8 uur	—	—	×	—
12 uur	—	×	—	—
14 uur	—	—	—	—
16 uur	—	—	—	—
18 uur	×	×	×	— 1 × neg.
20 uur	—	—	—	—
24 uur	—	—	—	—
28 uur	—	—	—	—
30 uur	—	×	—	—
32 uur	—	—	—	—
36 uur	—	—	×	— 1 × neg.
40 uur	—	—	—	—
44 uur	—	—	—	—
45 uur	×	—	—	— 1 × neg.
46 uur	—	—	—	—
47 uur	×	×	—	—
48 uur	—	×	—	—
49 uur	—	—	×	—
50 uur	—	—	×	—
51 uur	—	—	×	—
52 uur	—	—	×	—
56 uur	—	—	—	—
60 uur	—	—	—	— 2 × neg.
64 uur	—	—	—	—
66 uur	×	—	—	—
67 uur	—	—	—	—
68 uur	×	×	—	—
69 uur	×	×	—	×
70 uur	×	×	—	×
71 uur	—	×	×	×
72 uur	—	×	×	— <sup>1)</sup>
73 uur	—	×	×	×
74 uur	—	—	×	×
75 uur	—	×	×	×

1) Massale luteïnisatie.  
D = doorgebroken.

2) Massale follikeltransformatie.

Verblijf in copuline	c.l. alpha-phase	c.l. bèta-phase	c.l. gamma-phase	Getransf. follikels
76 uur	—	×	XXXX	XX
77 uur	—	—	X	X D
78 uur	—	—	—	—
80 uur	—	—	—	— 2 X neg.
81 uur	×	—	—	—
82 uur	×	—	—	—
83 uur	—	×	—	—
84 uur	×	×	—	—
85 uur	—	×	×	—
86 uur	—	—	×	—
87 uur	×	—	—	—
88 uur	—	XX	—	—
89 uur	—	—	×	—
90 uur	—	—	×	—
91 uur	XXXX	X	—	—
92 uur	X	XXXX	X	XX
93 uur	XX	XX	—	X D
94 uur	—	XX	XX	XX D
95 uur	—	XXXX	—	XX D
96 uur	—	—	XXXX	X
97 uur	—	×	XXXX	XX D
98 uur	—	×	XXXX	X D
99 uur	—	—	XX	—
100 uur	—	—	X	X D
102 uur	—	×	X	—
104 uur	—	×	—	—
106 uur	—	—	—	—
107 uur	×	—	—	—
108 uur	×	—	—	—
109 uur	×	×	—	—
110 uur	—	×	—	—
111 uur	—	—	—	—
112 uur	—	—	×	—
113 uur	—	—	×	—
114 uur	—	—	—	— 2 X neg.
116 uur	—	—	—	— 2 X neg.
117 uur	—	—	—	— 2 X neg.
118 uur	—	—	—	— 2 X neg.
119 uur	—	—	—	—
120 uur	—	—	—	—
121 uur	—	—	×	— 1 X neg.
122 uur	—	—	—	—
124 uur	—	—	—	—
128 uur	—	—	—	—
132 uur	×	—	—	—
136 uur	—	—	—	—
140 uur	XX	—	—	—

Verblijf in copuline	c.l. alpha-phase	c.l. bèta-phase	c.l. gamma-phase	Getransf. follikels
141 uur	—	—	XX	—
142 uur	X	X	—	XX
143 uur	X	XX	—	—
144 uur	—	—	XX	XX
145 uur	X	—	—	—
146 uur	—	X	X	XX
147 uur	—	—	XX	XXX D
148 uur	—	X	X	XX D
149 uur	—	X	X	X D
150 uur	—	—	X	XX D
152 uur	—	X	X	—
154 uur	—	—	—	—
156 uur	—	—	X	—
160 uur	—	—	X	—

(hoogstens vier), „veel” (vier tot acht) en „zeer veel” (meer dan acht). In tabel III worden de begrippen „weinig”, „veel” en „zeer veel” respectievelijk aangeduid met X, XX en XXX.

Deze resultaten bevestigen:

- dat de corpora lutea het secretiestadium hebben bereikt tegen den tijd, dat de elevatie haar hoogtepunt bereikt (resp. ongeveer na 72 uur, 94 uur en 144 uur),
- de snelle evolutie en degeneratie der corpora lutea,
- het optreden van betrekkelijk veel corpora lutea gedurende de elevatie-perioden,
- het optreden van een gering aantal corpora lutea na ongeveer 84 uur.

Voorts brengen zij eenige nieuwe feiten aan het licht:

- het tamelijk algemeen optreden van enkele corpora lutea na ongeveer 46 uur en 108 uur,
- het zonder bepaalden regelmaat optreden van enkele corpora lutea tijdens de beide eerste etmalen,
- een nagenoeg algemeen optredende follikeltransformatie bij het bereiken van de hoogste elevatie.

Hierbij valt het volgende op te merken:

*Na het beëindigen van de secretiephase vermindert de omvang van het corpus luteum snel door het krimpen der granulocellen en door het emigreeren van een groot deel der cellen naar het stroma.*

*De getransformeerde follikels collabeeren bij het doorbreken naar de ovariale holte.*

Mijns inziens moet in dit ongeveer gelijktijdig collabeeren van een groot aantal geluteïniseerde en getransformeerde follikels de oorzaak worden gezien van de snelle vermindering der elevatie.

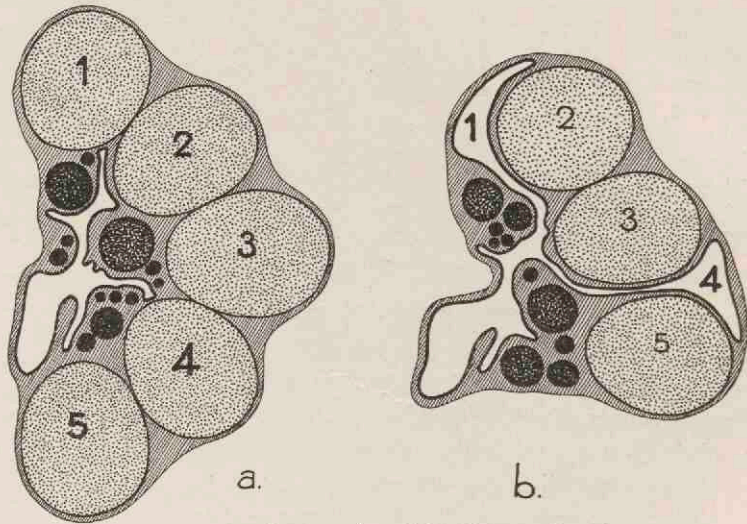


Fig. 39. Doorsneden door een ovarium.

- A. vóór de follikeltransformatie.  
 B. Na de transformatie en het doorbreken van de follikels 1 en 4. Door het collabeeren dezer beide follikels is het ovarium sterk in omvang afgenomen.

Het regelmatige optreden van corpora lutea na ongeveer 46, 84 en 108 uur gaat niet gepaard met elevaties. Hierbij moet wederom opgemerkt worden, dat slechts elevaties van minstens 25 graden als zoodanig werden genoteerd. Omgekeerd gaat de elevatieperiode echter onveranderlijk gepaard met een sterke luteïnisatie. Een oorzakelijk verband tusschen het tot stand komen der beide verschijnselen is echter nog niet aan te wijzen.

De enkele corpora lutea, die tijdens de eerste twee etmalen optreden, danken hun ontstaan ongetwijfeld aan een nawerking van den autonomen cyclus. (Men vergelijke de figuren 26 t.e.m. 29.)

Bijzondere aandacht verdient het feit, dat de follikeltransfor-

matie streng beperkt schijnt te zijn tot een korte phase van de elevatieperiode. Welk een rol de getransformeerde follikels moeten spelen bij het verdwijnen van de elevatie wordt geïllustreerd door de figuren 39a en 39b, die duidelijk toonen hoezeer de omvang van het ovarium vermindert door het collabeeren dezer follikels. Tusschen het optreden van de elevatie en van de follikeltransformatie is geen direkt verband te vinden.

De tot dusverre verkregen resultaten kunnen als volgt worden samengevat:

Tijdens de elevatieperiode zijn de eieren gezwollen, buiten de elevatieperioden zijn de eieren niet gezwollen. De eizwelling kan worden beschouwd als de directe oorzaak der elevatie.

Afgezien van een geringe luteïnisatie op verschillende momenten van de copulinereactie kon een parallel worden vastgesteld tusschen luteïnisatie en elevatie.

Een dergelijke, doch nog strengere parallel bestaat er tusschen follikeltransformatie en elevatie.

Het collabeeren van talrijke geluteïniseerde en getransformeerde follikels veroorzaakt de snelle vermindering van de elevatie tijdens de copulinereactie. Het langzame verdwijnen der elevatie tijdens den autonomen cyclus moet vermoedelijk worden toegeschreven aan een slinken der eieren.

Luteïnisatie en follikeltransformatie gaan nimmer aan de zwelling vooraf, geen dezer beide verschijnselen kan dus als de oorzaak der zwelling worden beschouwd.

Anderzijds bestaat de mogelijkheid, dat de eizwelling gunstige voorwaarden schept voor de luteïnisatie en de transformatie. De directe oorzaak dezer verschijnselen moet echter m.i. elders gezocht worden.

#### **De rol van de hypophyse.**

Door het fixeeren van een groot aantal koppen was ik in staat te onderzoeken, of er wellicht een parallel bestaat tusschen de



TABEL IV.

Verband tusschen hypophyse en ovarium.

Nummer	Duur der copu- linewerking	Alpha- c.l.	Bèta- c.l.	Gamma- c.l.	Restitutie in hypophyse
1	3 uur	—	×	—	—
2	6 uur	—	—	×	—
3	14 uur	—	—	—	—
4	18 uur	×	×	×	—
5	30 uur	—	×	—	—
6	45 uur	×	—	—	×
7	46 uur	—	—	—	—
8	47 uur	×	×	—	—
9	49 uur	—	—	×	—
10	50 uur	—	—	×	—
11	51 uur	—	—	×	—
12	66 uur	×	—	—	×
13	67 uur	—	—	—	—
14	69 uur	×	×	—	×
15	70 uur	×	×	—	—
16	71 uur	—	×	×	—
17	73 uur	—	×	×	—
18	75 uur	—	×	×	—
19	77 uur	—	—	×	—
20	81 uur	×	—	—	×
21	82 uur	×	—	—	?
22	83 uur	—	×	—	—
23	85 uur	—	×	×	—
24	86 uur	—	—	×	—
25	87 uur	×	—	—	—
26	89 uur	—	—	×	—
27	90 uur	—	—	×	—
28	91 uur	×	×	—	—
29	93 uur	×	×	—	—
30	94 uur	—	×	×	—
31	95 uur	—	×	—	—
32	97 uur	—	×	×	—
33	98 uur	—	×	×	—
34	99 uur	—	—	×	—
35	102 uur	—	×	×	—
36	106 uur	—	—	—	—
37	107 uur	×	—	—	×
38	109 uur	×	×	—	—
39	110 uur	—	—	—	—
40	111 uur	—	×	—	—
41	113 uur	—	—	×	—
42	114 uur	—	—	—	—
43	117 uur	—	—	—	—
44	118 uur	—	—	—	—
45	119 uur	—	—	—	—
46	121 uur	—	—	×	—
47	145 uur	×	—	—	×
48	146 uur	—	×	×	—

gebeurtenissen in de hypophyse en die in het ovarium. Dat er een nauw verband bestaat tusschen deze beide organen is algemeen bekend, eveneens dat de plaats, waar de gonadotrope hormonen worden gevormd, in de voorkwab van de hypophyse gezocht moet worden. Men moet zich de vorming dezer hormonen niet voorstellen als een continu proces, doch veeleer als een korte restitutie, die telkenmale plaats heeft, wanneer tengevolge van een extrusie de hoeveelheid hormoon in de hypophyse verminderd is. Nu kan met behulp van de azan-kleuring worden vastgesteld, of er ten tijde van het fixeeren hormoonrestitutie in de hypophysevoorkwab plaats had. In dat geval mag worden aangenomen, dat kort tevoren een hormoonextrusie heeft plaats gevonden.

Van de 108 met de ovaria van tabel III corresponderende koppen bleken die van de eerste serie proefdieren ongeschikt voor verder onderzoek. Onvoldoende fixatie en/of insluiten waren oorzaak, dat de hypophysen niet behoorlijk konden worden gesneden. De 48 koppen van de tweede serie leverden echter voldoende materiaal om een zeker verband tusschen de hormoonextrusie en bepaalde veranderingen in het ovarium te kunnen onderkennen. (In tabel IV geef ik deze dieren een doorlopende nummering, die dus niet correspondeert met hun plaats in tabel III.)

Deze gegevens vestigen sterk den indruk, dat de hormoonrestitutie in de hypophyse samenvalt met het eerste begin van de luteïnisatie in het ovarium. Hebben de corpora lutea het secretiestadium bereikt, dan houdt de hormoonrestitutie op. De extrusie, die aan de restitutie vooraf gegaan moet zijn, gaat kennelijk ook aan de luteïnisatie vooraf en kan zeer wel beschouwd worden als de oorzaak daarvan. Vergelijking met tabel II toont verder, dat deze extrusie hoogst waarschijnlijk eerst plaats vindt, nadat de eizwelling is begonnen. Dientengevolge is het niet waarschijnlijk, dat deze extrusie de oorzaak der zwelling zou zijn.

## HOOFDSTUK VI.

### SAMENVATTING VAN HET ONDERZOEK.

De aanleiding tot dit onderzoek bestond uit een onverwachte waarneming, welke het synchrone optreden van elevaties bij veertig maagdelijke *Lebistes*wijfjes toonde en wel vier, vijf en zeven dagen nadat deze wijfjes met een groot aantal mannetjes waren samengebracht.

Een contrôleproef bevestigde deze waarneming en bewees, dat het synchrone optreden der elevaties niet op imitatie berust.

Werden maagdelijke wijfjes in water gebracht, waarin mannetjes gezwommen hadden, dan reageerden zij op soortgelijke wijze. De elevaties traden nu evenwel op na drie, vier en zes dagen. Hieruit volgde, dat de wijfjes in de oorspronkelijke proef niet hadden gereageerd op de aanwezigheid van de mannetjes, maar op de aanwezigheid eener stof, die door de mannetjes was uitgescheiden. Tevens bleek, dat 80 mannetjes in 200 Liter leidingwater een werkzame concentratie van deze stof kunnen vormen, in een tijdsverloop van nog geen etmaal.

De groote rol, die bovenbedoelde stof blijkbaar speelt in de biologie van *Lebistes*, deed vermoeden, dat zij als een **hormoon** moet worden beschouwd. Met behulp van de door hem uitgewerkte testmethode was Duyvené de Wit in staat, dit vermoeden te bevestigen. Zijn onderzoek toonde aan, dat de uitgescheiden stof inderdaad een hormoon is en dat dit hormoon hoogst waarschijnlijk moet worden opgevat als een **steroïde** uit de **pregneen-** of uit de **pregnaan-**reeks. Ik heb dit hormoon, dat niet identiek bleek te zijn met een der tot dusverre bekende geslachtshormonen, **copuline** genoemd.

Observatie van geïsoleerde, maagdelijke wijfjes toonde, dat deze ook zonder de aanwezigheid van mannetjes of van copuline perioden hebben, waarin zij elevaties vertoonen. Daarbij blijken jonge wijfjes, met een leeftijd van 3 tot 4½ maand, een duidelijk individueel **rhythme** te hebben. De elevatieperioden treden in dit geval op met een interval van vier tot zes dagen. Elk jong wijfje doorloopt dus blijkbaar een eigen, **a u t o n o m e n**

cyclus. Zulk een cyclus omvat vier perioden. Tijdens de eerste periode neemt de elevatie toe, tijdens de tweede periode behoudt zij een hooge waarde, tijdens de derde periode neemt zij af en in de vierde periode kan als een rustperiode zonder elevatie worden beschouwd. De duur van de eerste en van de derde periode bedraagt van 12 tot 24 uur. De tweede en de vierde periode duren ieder een tot twee dagen. Een enkele maal duren zij zeer kort. In dat geval vertoont de elevatiecurve scherpe toppen (verg. fig. 11). Bij oudere wijfjes vervaagt allengs het rythme. Het interval tusschen de elevatieperioden wordt langer en bedraagt tenslotte twee tot drie weken.

De ontdekking van dezen autonomen cyclus noodzaakte mij, een methode te zoeken om dezen cyclus, respectievelijk de elevaties, die in het verband van den cyclus optreden, te onderdrukken. Eerst daarna zou ik in staat zijn, mij een juiste voorstelling van de reactie op het copuline te vormen. Nu waren alle voorafgaande waarnemingen gedaan bij optimale temperatuur. Door de temperatuur te verlagen tot  $22^{\circ}$  C. kon ik de autonome elevaties onderdrukken. Werden nu wijfjes, waarvan de autonome cyclus aldus onderdrukt was, in copulinehoudend water gebracht, dan vertoonden zij nagenoeg dezelfde reactie als wijfjes, die doorlopend in water van optimale temperatuur waren gebleven. In beide gevallen traden elevaties op na ongeveer drie, vier en zes dagen. Er bleken evenwel twee punten van verschil te zijn:

Zijn de autonome elevaties niet onderdrukt, dan treden er gedurende de beide eerste dagen individueele veranderingen in de lichaamshelling op. Deze blijven uit, indien de autonome cyclus vooraf onderdrukt is. Bovendien wordt in dit geval de hoogste elevatie van de eerste elevatieperiode omstreeks vier uur eerder bereikt (respectievelijk na 72 en 68 uur). Beide verschilpunten zijn m.i. te verklaren uit een nawerking van den autonomen cyclus indien deze niet vooraf is onderdrukt.

Onder alle omstandigheden is een snelle vermindering van de elevatie na het bereiken van den hoogsten stand kenmerkend voor de copulinereactie.

Het optreden van den elevatietoestand bleek een gevolg te zijn van een zwelling der eieren. Het verdwijnen der elevatietoestand bleek ver-

schillende oorzaken te hebben. De door het interne autonome rhythme veroorzaakte elevatie verdwijnt doordat de gezwollen eieren slinken. De primaire oorzaak voor het snelle verdwijnen van de elevaties der copulinereactie blijkt gezocht te moeten worden in het collabeeren van talrijke follikels.

Een direkte oorzaak voor het zwellen en slinken der eieren kon niet worden gevonden. Er bleek evenwel een duidelijk parallelisme te bestaan tusschen deze en bepaalde andere verschijnselen. Deze andere verschijnselen zijn de luteïnisatie en de follikeltransformatie.

#### **Autonome cyclus en luteïnisatie.**

Tegen den tijd, waarop de elevatie haar hoogste waarde bereikt, luteïnisseeren eenige follikels (gemiddeld vier). De corpora lutea bereiken binnen enkele uren het secretiestadium, waarin zij van vierentwintig tot achtenveertig uur blijven. Tegen den tijd, waarop de elevatie gaat verdwijnen, wordt de secretie beëindigd en bereikt het corpus luteum de gamma-phase. Deze kan op haar beurt duren tot de rustperiode van den cyclus is aangebroken. Tegen het einde dezer rustperiode treft men echter nog slechts necrotische resten van corpora lutea aan.

Nadat de autonome cyclus, door een meerdaagsch verblijf in water van 22° C., onderdrukt is treden nog slechts sporadisch corpora lutea op. Dit wijst er op, dat niet alleen de elevaties, doch de geheele autonome cyclus onderdrukt is.

Een follikeltransformatie kon ik tijdens den autonomen cyclus niet waarnemen.

#### **Copulinereactie en luteïnisatie.**

De copulinereactie is gekenmerkt door het optreden van zes luteïnisatieperioden. Drie dezer perioden vallen samen met de drie elevatieperioden, de drie andere treden respectievelijk na ongeveer 46, 84, en 108 uur op. Gedurende deze drie laatstgenoemde perioden ontstaan slechts weinig corpora lutea. Tijdens de elevatieperioden zijn zij veel talrijker. Slechts in de enkele gevallen, waarin er zeer veel getransformeerde follikels ontstaan, treden slechts weinig corpora lutea op. De evolutie en de degeneratie der corpora lutea verlopen tijdens de copulinereactie veel sneller dan tijdens den autonomen cyclus. De luteïnisatie begint twee tot drie uur voor het bereiken van den hoog-

sten elevatiestand. Is deze hoogste stand bereikt, dan verkeerden de corpora lutea reeds meerendeels in het secretiestadium. Een tot twee uur later heeft het grootste deel de gamma-phase bereikt. Ook deze phase wordt in enkele uren doorlopen.

#### **Copulinereactie en follikeltransformatie.**

De follikeltransformatie komt uitsluitend tijdens de elevatieperioden van de copulinereactie voor. Zij begint gelijktijdig met de luteïnisatie. De doorbraak der follikels valt samen met het bereiken van den hoogsten elevatiestand, vier tot zes uur later hebben zij reeds dezelfde gedaante als de oudere vertakkingen van de ovariale holte gekregen.

Het collabeeren van talrijke follikels (doorbrekende getransformeerde follikels en degenereerende corpora lutea) veroorzaakt de snelle vermindering van de elevatie.

#### **De oorzaak der luteïnisatie.**

Het begin der luteïnisatie valt regelmatig samen met een hormoonrestitutie in de hypophysevoorkwab. Hieruit valt af te leiden, dat telkenmale een extrusie van hypophysehormoon aan de luteïnisatie vooraf gaat. Nu bestaat er bij zoogdieren juist dezelfde volgorde van deze beide verschijnselen en daar kon worden aangetoond, dat de extrusie de oorzaak is van de luteïnisatie. De duidelijke analogie rechtvaardigt de veronderstelling, dat dit ook bij *Lebistes* het geval zal zijn.

#### **De oorzaak van de zwelling.**

Het feit, dat de zwelling der eieren voorafgaat aan alle andere door mij onderzochte verschijnselen, sluit de mogelijkheid uit, dat een dezer verschijnselen de oorzaak van de zwelling zou kunnen zijn. Zelfs de veronderstelling, dat de zwelling een inleidende phase van de luteïnisatie zou kunnen zijn, kan niet gehandhaafd worden. Immers, ook de hormoonextrusie in de hypophyse, die de luteïnisatie veroorzaakt, treedt later op dan de zwelling. Anderzijds bestaat de mogelijkheid, dat deze zwelling gunstige voorwaarden voor de luteïnisatie schept.

#### **Oorzaak der follikeltransformatie.**

Het feit, dat de follikeltransformatie samenvalt met een sterke luteïnisatie doet de vraag rijzen, of de beide verschijn-

selen wellicht eenzelfde oorzaak hebben. Voorloopig moet dit betwijfeld worden, daar het optreden van de transformatie en de luteïnisatie niet onverbrekkelijk verbonden zijn. Anderzijds mag de mogelijkheid ook niet onvoorwaardelijk verworpen worden, daar de sterke luteïnisatie wel steeds met een transformatie samengaat.

#### **De beteekenis der zwelling.**

Terwijl de oorzaak der zwelling nog in het duister ligt, is haar biologische beteekenis evident. Zij veroorzaakt de elevatie en daarmee de mogelijkheid tot copuleeren.

#### **De beteekenis der luteïnisatie.**

Naar de biologische beteekenis der luteïnisatie kan nog slechts worden gegist. De eenige aanwijzing, die hier vooralsnog gevolgd kan worden, is gelegen in het voorkomen van werkzame corpora lutea tijdens de eerste dagen van de zwangerschap. Hierin vertoont het corpus luteum van *Lebistes* een duidelijke parallel met dat der zoogdieren. Vermoedelijk speelt het dus ook hier een rol bij de endocrine organisatie van de zwangerschap.

#### **De beteekenis der follikeltransformatie.**

Deze is mijns inziens hierin gelegen, dat:

- a. de ovariale holte wordt verruimd;
- b. een groote, eiwitrijke massa wordt uitgescheiden, die slechts zin heeft, indien men haar als een embryotrophe opvat;
- c. een groot aantal capillairen in de ovariale holte wordt aangelegd, waardoor de mogelijkheid is geschapen, om een groote hoeveelheid zuurstof in deze holte af te geven. De transformatie krijgt hierdoor het karakter van een voorbereiding van de te verwachten zwangerschap.

Vergelijking van de begeleidende verschijnselen van de elevatie, eenerzijds tijdens den autonomen cyclus optredende, anderzijds optredende tijdens de copulinereactie.

**Autonome cyclus:**

De elevatie wordt veroorzaakt door een zwelling der eieren.

De elevatie maakt de copulatie mogelijk.

De elevatie is klein, doch houdt lang aan.

Tegen den tijd, waarop de elevatie haar hoogtepunt bereikt, ontstaan corpora lutea. Hun aantal is klein.

Er ontstaan geen getransformeerde follikels.

Het zwellen en het slinken der eieren verlopen langzaam. Beide processen duren van 12 tot 24 uur.

Het verdwijnen der elevatie wordt veroorzaakt door het slinken der gezwollen eieren.

Er heeft een geringe uitscheiding van embryotrophe door het epitheel plaats.

**Conclusies.**

*Het synchrone optreden van elevatie, luteïnisatie en follikeltransformatie stempelt den elevatietoestand tot bronst.*

*De autonome cyclus van het maagdelijke Lebigteswifje is daarom een bronst-cyclus. De uitingen van deze bronst zijn zwak, maar houden lang aan.*

*De reactie van het maagdelijke wifje op copuline moet worden opgevat als een, langs hormonalen weg geïnduceerde, bronst. De uitingen dezer bronst zijn krachtig, maar duren slechts kort.*

**Copulinereactie:**

Idem.

Idem.

De elevatie is groot, doch duurt kort.

Tegen den tijd, waarop de elevatie haar hoogtepunt bereikt, ontstaan corpora lutea. Hun aantal is groot.

Naast corpora lutea ontstaan in den regel getransformeerde follikels.

Het zwellen en het slinken der eieren verlopen vlugger. Beide processen duren van 6 tot 12 uur.

Het verdwijnen der elevatie wordt in hoofdzaak veroorzaakt door het collabeeren van follikels.

Er heeft een sterke uitscheiding van embryotrophe door de granulosa der getransformeerde follikels plaats.



## HOOFDSTUK VII.

### GEGEVENS BETREFFENDE DE KEUZE DER PROEFDIEREN EN DE GEVOLGDE TECHNIEK.

#### Keuze der proefdieren.

Voor het bepalen van den autonomen cyclus en bij het zoeken van een methode om dezen te onderdrukken werden jonge, juist gerijpte wijfjes gebruikt. De leeftijd dezer dieren bedroeg van drie en een halve tot vier en een halve maand. Ook voor de analyse van de copulinereactie gebruikte ik aanvankelijk zeer jonge dieren. Noodzakelijk is dit niet, doch het brengt het voordeel mede, dat men met kleinere aquaria kan volstaan. Alle op deze reactie betrekking hebbende proeven werden herhaald met grootere dieren, die een leeftijd van zes tot twaalf maanden bereikt hadden. Het verschil in leeftijd bleek het reactievermogen niet te beïnvloeden.

Voor het histologische onderzoek gebruikte ik bij voorkeur dieren van omstreeks vijf maanden. Jongere dieren hebben veelal een nietig ovarium, terwijl oudere dieren uiteraard een groot ovarium hebben, dat het maken en doorzoeken van onnoodig veel coupes noodzakelijk maakt.

De proeven, die werden gedaan om den invloed van verschillende hormonen te kunnen vergelijken, zouden, strikt genomen, met een volkomen fokzuiveren stam uitgevoerd moeten zijn. Tijdgebrek noodzaakte mij, genoeg te nemen met een stam, die zich in vijf generaties constant toonde, voor zoover het groei, rijping en kleur betreft.

Voor de produktie van het copuline koos ik steeds volkomen rijpe mannetjes. Groote exemplaren (langer dan 30 m.M.) werden hierbij uitgesloten. Dit geschiedde op grond van het feit, dat deze groote mannetjes hun secundaire geslachtskenmerken opvallend laat ontwikkelen. Bovendien gelijken zij ook reeds uit hoofde van hun grootte, meer dan de andere mannetjes, op wijfjes. Mochten er nu (wat mij nimmer gebleken is) intersexen voorkomen, dan meende ik, dat deze het eerst onder deze groote mannetjes verwacht zouden kunnen worden.

Dieren, die gemeten of gedood moesten worden, heb ik steeds vooraf genarcotiseerd. Hiertoe kwamen zij in water, waarin wat urethaan was opgelost. De werking is reeds na enkele seconden

merkbaar. Na een halve minuut is alle beweging opgehouden en kantelen de dieren. Brengt men ze daarna in lucht, dan kan men ze, zonder nadeelige gevolgen, geruimen tijd onderzoeken. Komen ze in gewoon water terug, dan komen zij binnen enkele minuten weder bij.

#### Metingen.

Eieren worden gemakkelijk gemeten, indien men ze op een objectmicrometer legt. Een sterke loupe vergroot voldoende. Om geheele visschen te meten ging ik op dezelfde wijze te werk. Alleen werden deze op een grootere schaalverdeeling gelegd.

Tellingen van eieren en corpora lutea verricht men het eenvoudigst, door het ovarium ietwat te pletten. Ik bracht het hier toe op een holgeslepen objectglas en legde er daarna met zachten druk een dekglas op. De eieren kwamen daardoor in één vlak te liggen, terwijl het toch slechts zelden voorkwam, dat er een beschadigd werd.

#### Het histologische onderzoek.

Knipt men de lichaamsholte zijdelings open, dan kan het ovarium er in den regel zonder moeite uit gelicht worden, nadat het mesovarium en de eileider doorgeknipt zijn. Is het ovarium klein of zijn de eieren sterk gezwollen, dan doet men beter, het ovarium in situ te fixeeren.

Bij het histologische onderzoek der ovaria werden twee methoden gevolgd. Voor een deel werden zij in verschen toestand onderzocht, een ander deel werd gefixeerd en tot de gebruikelijke coupes verwerkt.

Het onderzoek van versch materiaal wordt aanzienlijk vergemakkelijkt door het gebruik van opvallend licht. (Leitz „Ultropak” voldeed uitstekend.) Hiermede kan men de voornaamste fasen van de luteïnisatie goed onderscheiden. Slechts het onderscheiden tusschen een alpha-phase en een zeer jonge bèta-phase is niet steeds mogelijk. Bij dooierrijke follikels kan men het beeld veel duidelijker maken door de dooiermassa te verwijderen. Hiertoe moet het preparaat voorzichtig geplet worden, waardoor de grootere follikels barsten. De dooier kan dan weggespoeld worden. Minder goed voldeed het onderzoek in doorvallend licht. Pogingen om het beeld door een supravitale kleuring te verduidelijken mislukten. Postvitale kleuringen hadden niet veel meer succes.

Als fixatievloeistof gebruikte ik die van Lenhossek. Zij heeft het voordeel, dat zij zoowel voor het ovarium als voor de hypophyse goed bruikbaar is. Twee of drie uur fixeeren is voor het ovarium voldoende. Langer verblijf in deze vloeistof moet vermeden worden, daar hierdoor de dooiers te hard zouden worden. Kan het materiaal niet direkt verder verwerkt worden, dan dient het na de fixatie in alcohol van 70 % bewaard te worden. Sterkere alcohol maakt den dooier hard en een zwakker mengsel doet het weefsel masereeren. Indien eenigszins mogelijk, werd het materiaal echter steeds onmiddellijk in paraffine ingesloten.

Daar de fixeervloeistof van Lenhossek niet algemeen bekend is, vermeld ik hieronder de bereidingswijze:

Men voegt 75 c.c. verzadigde sublimaatoplossing en 25 c.c. alcohol van 50 % samen en verzadigt het geheel met pikrinezuur. Deze oplossing is goed houdbaar. Voor het gebruik voegt men per 100 c.c. van dit mengsel 5 c.c. ijsazijn toe.

Wanneer later de coupes gekleurd worden kan men het pikrinezuur verwijderen met behulp van lithiumcarbonaat. Hierdoor wint het beeld aan duidelijkheid. Bovendien zouden verschillende kleurstoffen op den duur door het pikrinezuur ontleed worden. Het lithiumcarbonaat moet, in den vorm van een verzadigde oplossing, worden toegevoegd aan één of meer van de alcoholbaden, die vóór de kleuring doorloopen worden.

Bij het fixeeren van koppen verdient het aanbeveling, om het schedeldak vooraf weg te snijden. Indien dit gebeurd is, kan men met drie uur fixeeren volstaan. Dit heeft het groote voordeel, dat men den kop en het ovarium van een dier steeds te zamen kan behandelen. Dit spaart glaswerk en vloeistoffen uit en voorkomt vergissingen, indien men veel materiaal tegelijkertijd verwerken moet. Langer fixeeren schaadt de hypophyse echter niet.

Na de fixatie wordt het materiaal zoo spoedig mogelijk ingesloten in paraffine. Hierbij dient het gebruik van absolute alcohol vermeden te worden, daar ook deze den dooier te hard zou maken. Ik bracht het materiaal daarom achtereenvolgens in alcohol 70 %, alcohol 80 % (respectievelijk 6 en 4 uur) en alcohol 96 % (2 uur). Als volgend bad wordt veelal methylbenzooat-celloidine aanbevolen. Het gebruik van dit mengsel moet

evenwel sterk ontraden worden, indien men dooierrijke eieren wenscht te snijden. In dat geval voldoet methylbenzooat veel beter. Ovaria moeten bij voorkeur niet langer dan 12 uur in dit bad blijven. In dien tijd moet men de vloeistof minstens twee maal vernieuwen. Uit methylbenzooat komt het preparaat gedurende ten hoogste twintig minuten in benzol, dat minstens éénmaal ververscht wordt. Tenslotte komt het in paraffine (smeltpunt  $58^{\circ}$ ). De paraffine moet in den loop van  $2\frac{1}{2}$  uur twee of drie maal ververscht worden. Een langer verblijf in gesmolten paraffine verhardt den dooier. Ondanks alle voorzorgen schijnt dit verharderen niet geheel te vermijden te zijn. Met de bovenbeschreven methode bereikt men echter het resultaat, dat jonge eieren en corpora lutea goed te snijden zijn.

#### Kleuring.

De ovaria werden gekleurd met haemaluin en eosine. Ik gebruikte de zure haemaluin volgens P. Mayer en een alcoholische eosine-oplossing. (verg. B. Romeis, „Taschenbuch der microscopischen Technik“.)

Bij de kleuring van de hypophyse werd de azan-kleuring toegepast (verg. Romeis). Na de door mij gebruikte fixatiemethode behoeven de preparaten niet langer dan 10 tot 12 minuten in de warme azocarmynoplossing te blijven.

#### Gebruikte hormonen.

Oestron, dat in de urine van zwangere vrouwen wordt aangetroffen, werd door Dingemanse, Doisy en Butenandt in kristallijne toestand verkregen. Door Marker en Kamme werd het synthetische bereid uit neo-ergosterine. Ofschoon het niet geheel identiek is met het, in de follikels van De Graaf voorkomende, oestradiol, wordt het toch veelal met den naam follikelhormoon aangeduid. In de natuur komen meerdere verwante stoffen voor, bij voorbeeld het oestriol in de urine van zwangere vrouwen en een drietal, door Girard ontdekte stoffen in de urine van drachtige merries. Elk dezer stoffen kan men in de literatuur aantreffen onder den naam memformon. Ook met den naam progynon worden meerdere dezer stoffen aangegeven, veelal zonder dat nauwkeurig wordt vermeld, welke stof bedoeld is. Dientengevolge is het vaak moeilijk, de bereikte resultaten onderling te vergelijken. Ik gebruikte de stof, die door de

standaardiseeringscommissie van den Volkenbond oestron werd genoemd. In hoofdstuk I heb ik reeds vermeld, dat ik geen feminiseerende werking van dit hormoon kon waarnemen bij *Lebistes*. Berkowitz, die gelijktijdig een dergelijke proef deed, verkreeg positieve resultaten. Daarbij werd progynon(?) oraal toegediend. Indien hiermede direkt na de geboorte werd begonnen, bleven de secundaire geslachtskenmerken van de mannetjes uit. Na drie maanden bleken de testes veranderd te zijn in ovotestes. Werd eerst na de rijping met de toediening van het progynon begonnen, dan werden de testes wel min of meer gereduceerd, maar de reeds ontwikkelde secundaire geslachtskenmerken bleven <sup>1)</sup>.

**Progesteron.** Deze naam werd door bovengenoemde commissie gegeven aan het zuivere Corpus-luteum-hormoon. Aangezien het in twee vormen voorkomt (alpha- en bèta-progesteron) heeft de commissie, bij het vaststellen van de standaardeenheid, een keuze moeten doen. De internationale standaardeenheid is nu 0,001 g. van het bèta-progesteron. Daar het in mijn geval nog slechts om een oriënteerende proef ging scheen het mij het beste toe, een mengsel van beide vormen te gebruiken. Volgens Butenandt zou dit mengsel namelijk de meest werkzame vorm van het hormoon zijn.

Testosteron en androsteron zijn mannelijke hormonen, die uit dierentestes kunnen worden geïsoleerd. Zij zijn nauwverwant. Testosteron (kamgroeihormoon) werkt bij zoogdieren krachtiger dan androsteron. Van een masculiniseerende werking bemerkte ik niets. Beide hormonen bleken in beide geslachten de rijping en bij de wijfjes bovendien den groei te stimuleeren. Merkwaardig is het feit, dat deze mannelijke hormonen bij *Lebistes* dezelfde uitwerking hebben als het corpus luteum-hormoon.

---

<sup>1)</sup> Zie literatuuropgave.

## LITERATUUROPGAVE.

1. Agassiz. Discovery of viviparous fish. Am. Journ. Science. Vol. XIX, pag. 133.
2. Alcock. New species of viviparous fish. Journ. Roy. Micr. soc. of London I, pag. 40.
3. Agduhr. Ueber die Steigerung der Widerstandskraft der Organismen gegen schädigende Factoren durch das Zusammenleben der Geschlechter. Hist. Inst. Upsala, N.F. 43, pag. 1—48.
4. Berkowitz, P. The effects of estrogenic substances in *Lebistes reticulatus*. Dep. Biol. Wash. Square Coll. New York Univ. Anat. Rec. 71, pag. 161—175.
5. Bretschneider, L. H. en Duyvené de Wit, J. J. Ueber die Hormonenkette: Wirksame Harnsubstanz—Ovar—Legeröhre bei *Rhodeus amarus*; bewiesen durch die histologische Stufenzählmethode. Proc. Kon. Akad. van Wetensch. Vol. XL, no. 7.
6. Cate Hoedemaker, N. J. ten —. Beiträge zur Kenntniss der Plazentation bei Haien und Reptilien. Akad. Proefschr. Utrecht 1933.
7. Clauberg, C. Innere Secretion der Ovarien und der Plazenta. Barth, Leipzig 1937.
8. Dildine. The effect of light and temperature on the gonads of *Lebistes*. Anat. Rec. Philad. 67. Suppl. 1, pag. 61.
9. idem. Studies in teleostean reproduction I. Embryonic hermaphroditism in *Lebistes reticulatus*. Journ. of Morph. 60, pag. 261—277.
10. Duncker, C. Joh. Schmidt's Rassenuntersuchungen an Fischen. Biol. Centr. 1919.
11. Duyvené de Wit, J. J. Biologischer Nachweis zweier neuer Hormone durch *Rhodeus amarus* als Eichungsobject. Proc. Kon. Akad. van Wetensch. Vol. XL no. 6.
12. Eigenmann. The fishes of Panama. Science. New. Ser. Vol. XXII, pag. 18—20.
13. idem. The Poecilidae fishes of Rio Grande do Sul and La Plata-basin. Proc. Unit. Stat. Nat. Mus. XXXII pag. 425—433.
14. Evermann and Goldsborough. Notes on some fishes from the Canal-zone. Proc. Biol. Soc. of Wash. XXII.
15. idem. Further notes on fishes from the Canal-zone. ib. XXIII.
16. Fels, E. Das Hormon des Corpus luteum. Deuticke, Leipzig, 1937.
17. Fowler, H. Some fishes from Venezuela. Proc. Ac. Nat. Science. Philad. Vol. LXIII.
18. idem. Freshwaterfishes from the Marquesas and Society islands. Ocean. Paps. Bull. Bish. Mus. Honolulu 9.
19. Gallien. Action des hormones sexuelles dans la différenciation du sexe chez *Rana temporaria*. Lab. D'évol. des êtres org. et lab. de zool. Univ. Toulouse. Bull. biol. France et Belge 72, pag. 269—296.
20. Garman, S. Sexual rights and lefts. Am. Naturalist. Vol. XXIX, pag. 1012—1014.
21. idem. The Cyprinodonts. Mem. Mus. Comp. Zool. Harv. Coll. Vol. 19.
22. Gill. Th. Synopsis of the freshwaterfishes of the western portion of the island of Trinidad. Ann. Lyc. Nat. Hist. N.Y. Vol. VI, pag. 366—368.
23. idem. Note on the nomenclature of the poeciloid fishes. Proc. Unit. Stat. Nat. Mus. Vol. XVIII.
24. Ihering, H. von. Gattung *Girardinus*. Zeitschr. Wiss. Zool. Bd. 38.

25. Jaski, C. J. Ein Oestruscyclus bei *Lebistes reticulatus* (Peters) Proc. Kon. Akad. van Wetensch. Vol. XLII no. 2.
26. Krüger, B. Weitere Mitteilungen zur Kenntnis der Schlafstellungen bei Süßwasserfischen. Biol. Centr. XXXIII, no. 1.
27. Langer, W. Fr. Morphologie der viviparen Cyprinodonten. Morph. Jahrb. Bd. 47.
28. Lyngnes, R. Rückbildung der ovulierten und nichtovulierten Follikel im Ovarium der *Myxine glutinosa* L. Skrifter Norske Videnskaps Akademi, Oslo I. pag. 1—116.
29. Philippi, E. Fortpflanzungsgeschichte des viviparen teleosteer *Glari-dichthys*. Zool. Jahrb. Anat. Bd. 27.
30. Regan, C. T. On the freshwaterfishes of the island of Trinidad. Proc. Zool. Soc. London 1906. pag. 378—393.
31. Schmidt, Joh. Race-Untersögelses med. *Lebistes reticulatus* (Peters). Meddelels Carlsberg Lab. Bd. XIV.
32. Ssamohkvalova, G. V. De invloed van Röntgenstralen op de gonade en de secundaire geslachtskenmerken bij *Lebistes reticulatus*. (Russisch met een Engelsche samenvatting.) Trudy. Dinam. Razvit. 10, pag. 213—228.
33. Stansch, K. Die lebendig gebärenden Zahnkarpfen, Braunschweig 1914.
34. Stephan et Clavert. Sur la structure du testicule du poisson *Lebistes reticulatus* en rapport avec le determinisme de ses caractères sexuelles secondaires. C. r. Biol. Paris 127, pag. 438—440.
35. Winge, O. Succession of broods in *Lebistes*. Nature London 1937. pag. 467.
36. idem. The experimental alteration of sexchromosomes in autosomes and vice versa as illustrated by *Lebistes*. C. r. Lab. Carlsberg. Bd. 21. pag. 1—48.
37. idem. The location of 18 genes in *Lebistes reticulatus*. Journ. of gen. 1927.
38. Zolotnisky, N. Les moeurs de *Girardinus decemmaculatus*, poisson vivipare. Arch. Zool. Expér. et générale. 3e serie IX, no. 5.
39. Zondek, B. Die Hormone des Ovariums und der Hypophysenvorderlappen. 2e Aufl. Springer, Berlin.

## STELLINGEN.

### I.

Alle waarnemingen betreffende den legbuisgroei van *Rhodeus* moeten, voor zoover zij werden gedaan aan dieren, die in aquariumwater leefden, worden geverifieerd in hormoonvrij leidingwater.

### II.

De zogenaamde Barringtoniaformatie is geen formatie.

### III.

De verbreiding van *Primula imperialis* op het Gedeh-complex is gebonden aan één bepaalde magma-extrusie.

### IV.

Het relatief groote aantal polyploïde plantensoorten, dat voorkomt in gebieden met ongunstige levensvoorwaarden, berust niet zoozeer op een verhoogde levenskracht (Hagerup) als wel op een grootere levensparaatheid.

### V.

De schadelijke werking van *Salvia* op Robustakoffie berust in eerste instantie op een zuurstofconcurrentie.

### VI.

De intelligentie van den gibbon *Hylobates leuciscus* staat meer op het peil van de intelligentie der lagere apen dan op het peil van die der anthropoïden.

### VII.

Op grond van het onderzoek van Krijgsman (Zeitschr. Vergl. Phys. 1936) kan worden aangenomen, dat de physiologische aanpassing van de Trypanosomidae aan het zoogdierbloed een progressieve reeks vormt, die door voortgezet functieverlies (enzymverlies) wordt gekenmerkt.



## VIII.

Sedert de deelname van autosomale genen aan de geslachtsbepaling van bepaalde Cyprinodonten is aangetoond, kan het voorkomen van het Abraxastype naast het Drosophilatype worden verklaard uit de bastaardnatuur van het materiaal. De theorieën, die dit voorkomen van beide typen willen verklaren uit mutaties (Hämmerling) of uit het voorkomen van „leege” X- of Z-chromosomen (Kosswig), zijn daarom noodeloos gecompliceerd.

## IX.

Het volgen van de lessen in de natuurwetenschappen aan de (Indische) Algemeene Middelbare School dient facultatief te worden gesteld.

## X.

Het is dringend gewenscht, dat in Ned. Indië een permanente werkgelegenheid wordt ingesteld voor goedgefundeerd wetenschappelijk zoöfysiologisch onderzoek.

