SMITHSONIAN
LIBRARY

REPTILES & AMPHIBIANS
U. S. NATIONAL MUSEUM

EERSTE ONTWIKKELINGSSTADIEN VAN
MEGALOBATRACHUS MAXIMUS SCHLEGEL.

L. P. DE BUSSY.

EERSTE ONTWIKKELINGSSTADIËN VAN
MEGALOBATRACHUS MAXIMUS SCHLEGEL.

RECEPTIE NA AFLOOP DER PROMOTIE
IN HET UNIVERSITEITSGEBOUW. * * *

265
C24698
1904
Rapt.

EERSTE ONTWIKKELINGSSTADIËN VAN
MEGALOBATRACHUS MAXIMUS SCHLEGEL.

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN

DOCTOR IN DE PLANT- EN DIERKUNDE

AAN DE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM,

op gezag van den Rector Magnificus

Prof. I. J. DE BUSSY,

Hoogleeraar in de Faculteit der Godgeleerdheid,

IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN

op Dinsdag 6 December 1904, des namiddags te 4 uur,

IN DE AULA DER UNIVERSITEIT

DOOR

LOUIS PHILIBERT LE COSQUINO DE BUSSY,

geboren te Amsterdam.

AMSTERDAM — J. H. DE BUSSY — 1904.

OVERZICHT DER LITTERATUUR.

Het behoeft nauwlijks vermelding, dat de mededeelingen aangaande de ontwikkelingsgeschiedenis van *Megalobatrachus maximus* beperkt in aantal zijn; 't is toch algemeen bekend, dat deze dieren in de vrije natuur hun eieren op moeilijk bereikbare plaatsen afzetten, en slechts weinig inrichtingen hun in gevangen staat een verblijf kunnen verschaffen, overeenkomend met een natuurlijk. Dientengevolge zijn slechts weinig zoölogen zoo gelukkig geweest deze eieren in handen gehad te hebben, waardoor slechts een schaarsche literatuur over dit onderwerp bestaat. Mijn overzicht daarvan moet dus kort zijn.

SASAKI, de eerste, die melding maakt (1887) van de eieren van den reuzensalamander, deelt slechts de hoofdzaken mede: het synoion »resembles in form a rosary'' en »each egg floats in a clear fluid, included in a beadshaped gelatinous envelope''; deze is met de volgende verbonden door een korte streng, ter lengte van de langste as van de kapsels.

Een meer uitvoerige beschrijving geeft in 1902 ISHIKAWA, die ik over het algemeen juist acht, al zijn op sommige punten mijn waarnemingen anders dan de zijne.

In het *Verslag van de Wetenschappelijke Vergadering der*

Ned. Dierk. Vereeniging van 28 Febr. 1903 bevestigt Dr. KERBERT de waarnemingen van SASAKI, en in dat van 29 Sept. 1903 geeft VAN KAMPEN eenige mededeelingen over het tweede legsel door het Amsterdamsche vrouwelijke exemplaar, op 19 Sept. van dat jaar in het Aquarium afgezet; hij wijst er o. a. op, dat ISHIKAWA merkwaardigerwijze geen melding maakt van de met vloeistof gevulde ruimte, die het ei onmiddellijk omringt, hoewel dit juist een der merkwaardigheden van dit Amphibiënei is. VAN KAMPEN's beschrijving komt evenwel niet geheel met de feiten overeen.

De eerste afbeelding van eenige kapsels, op ongeveer natuurlijke grootte, brengt het stuk van Dr. KERBERT »Zur Fortpflanzung von *Megalobatrachus maximus* SCHLEGEL" in den *Zoologischer Anzeiger* n°. 27 van 1904; behalve een uitvoerige beschrijving van de gebeurtenissen vóór, tijdens en na het leggen der eieren, vinden wij er een overzicht in van de tot nu toe bekende gevallen onder de Amphibieën, waarin de eieren in rozenkransvormige snoeren worden afgezet, en van die, in welke een »Brutpflege" plaats heeft.

Kort daarna verschijnt van de hand van ISHIKAWA een herdruk van zijn mededeeling van 1902 in de *Proceedings of the Department of Natural History, Tokyo Imperial Museum*. Wanneer wij eenige kleine veranderingen in den tekst uitzonderen, is deze herdruk woordelijk gelijk aan het eerste bericht; maar het is vermeerderd met twee tabellen, die het grooter worden van de eikapsels gedurende de ontwikkeling met cijfers bewijzen, en met een viertal platen. Omdat zijn beschrijving van de eikapsel dus dezelfde is gebleven (uit de teekeningen blijkt, dat ISHIKAWA de vochtkamer wel gezien heeft), en die van de andere auteurs, naar het mij voorkomt, niet uitvoerig genoeg of eenigszins onjuist is, laat ik mijn waarnemingen hier volgen. Dat dit onderzoek gedaan kon worden, is geheel te danken aan de vele en uitstekende zorgen, die in NATURA ARTIS MAGISTRA aan alle dieren en aan deze dieren in het bijzonder, besteed worden, waarom ik wel reden heb den naam van den directeur, Dr. KERBERT, hier met erkentelijkheid te noemen.

Het Synoion.

Den 13^{den} September 1904, des avonds 9 uur, begon het Amsterdamsche vrouwelijke exemplaar van *Megalobatrachus* voor de derde maal in het Aquarium eieren te leggen ¹⁾. Den volgenden morgen bedroeg het aantal der afgezette eieren ongeveer 500, dat in den loop der volgende dagen tot 980 aangroeide. Spoedig bleek dat geen bevruchting had plaats gehad; wel zweefden gedurende de voorafgaande week talrijke slijmdraden in het water van het bassin, die bij microscopisch onderzoek zeer vele spermiën bleken te bevatten, maar nooit werd bij deze laatste eenige beweging waargenomen. Ook had de spermaejaculatie van het mannetje, die door Dr. KERBERT in den *Zoologischer Anzeiger* beschreven werd, ditmaal niet plaats, hoewel beide dieren onmiddellijk vóór het leggen zich zeer onrustig en heftig door hun verblijf bewogen.

Aangaande de bevruchting verkeerden wij dus in even groote onzekerheid als te voren.

Dat zij ditmaal niet heeft plaats gehad, is misschien het gevolg van een dezer feiten:

1^o Toen in 1903 de eieren afgezet waren, ving het mannetje aan hen met zooveel zorg te bewaken, dat het wijfje noodzakelijk uit dit bassin verwijderd en in een ander overgebracht moest worden; eenige maanden later eerst werden de dieren weer vereenigd. Nu zou het kunnen zijn, dat bij *Megalobatrachus* een dergelijk verschijnsel zich voordoet als bij de bevruchting van multipare wijfjes van *Salamandra maculosa*; dan zouden eenigen tijd na het eierleggen spermiën door het mannetje afgezet moeten worden om — na door het wijfje opgenomen te zijn — gedurende ongeveer een jaar bewaard te blijven in eenig deel van het vrouwelijke urogenitaalsysteem, vervolgens in de oviducten op te stijgen en daar de eieren, juist uit het

1) Door de mededeelingen van Dr. KERBERT is bekend, dat den eersten keer het leggen plaats had op den 18^{den} September 1902, en den tweeden op den 19^{den} September van 1903.

ovarium losgekomen, te bevruchten. Dr. KERBERT, hoewel hij dit mogelijk noemt, acht het evenwel niet waarschijnlijk, aangezien na de spermaejaculatie niets werd bespeurd van een opname van water met spermiën door het wijfje; hij beschouwt daarom die ejaculatie als een gevolg van de opwinding van het mannetje, die in geen verband zou staan met de bevruchting, hetzij van de juist gelegde eieren, hetzij van die, welke het volgende jaar afgezet zouden worden. In overeenstemming met deze hypothese is, dat, ofschoon wij de mogelijkheid niet mogen buitensluiten, de onwaarschijnlijkheid van een doordringen der spermiën door de dikke eikapselwanden van de aanwezige eieren toch zeer groot is, en vervolgens, dat bij alle Urodelen, voor zoover wij het weten, spermatophoren voorkomen. Vermoedelijk bestaat er dus geen verband tusschen de waargenomen spermauitstorting en eenige bevruchting. Het zou echter nog kunnen zijn, dat het mannetje eerst na afloop van de »Brutpflege'' spermatophoren afzet, en dus het wijfje de spermiën toch gedurende een 10-tal maanden bewaart, voordat zij hun functie gaan vervullen.

- 2^o Het uitblijven van bevruchting kan veroorzaakt zijn, doordat, tengevolge van het breken van de ruit van hun bassin, de dieren op 16 Augustus 1904, dus een maand vóór het leggen, in een hun vreemd aquarium moesten overgebracht worden.
- 3^o Ten slotte moet bericht worden, dat, toen het eierleggen op het punt bleek van te zullen geschieden, getracht werd met een zwak licht de geheimen van de bevruchting te ontdekken; misschien zijn de reuzensalamanders voor een dergelijke storing, hoe gering ook, even gevoelig als de axolotl's, wier gevoeligheid voor de minste stoornis welbekend is.

Met het oog op het niet bevrucht zijn der eieren ben ik geneigd den langen tijd, die tusschen het gelegd worden van het eerste en het laatste ei verliep, als een afwijking van den norm te beschouwen, te meer, omdat in het vorige jaar, toen wel bevruchting heeft plaats gevonden, de geheele eiermassa in enkele oogenblikken ter wereld is gekomen.

Persoonlijk heb ik het synoion onmiddellijk na het leggen niet kunnen waarnemen; aan Dr. KERBERT dank ik evenwel de mededeeling, dat de kapsels toen langwerpig waren, met de langste as in de richting van de strengen; de maten ervan waren 20 bij 11 mM. Het deel, dat het eerst te voorschijn was gekomen, gefixeerd in het mengsel van Groenroos, samengesteld uit 100 dln. geconcentreerde sublimaatoplossing, 100 dln. 0,5% chroomzuur en 2 dln. ijsazijn, bleek te bestaan uit een onontwarbaar kluwen, gevormd door de nog zeer dunne streng, die hier en daar tot kleine kapseltjes is opgezwollen. Wat deze bevatten, viel niet meer uit te maken. Zeer spoedig bereikten de kapsels haar normale grootte; toen ik ze 12 uren na het leggen kon onderzoeken, was de oorspronkelijke vorm verloren gegaan, en had de lange as zich loodrecht op de lengteas van de streng geplaatst. Negen opeenvolgende kapsels hadden toen de volgende maten: 14 bij 16; 15 bij 15,5; 14,5 bij 15,5; 15 bij 15,5; 15 bij 16; 14,5 bij 15; 13,5 bij 15,5; 14,5 bij 16; 13,5 bij 15 mM. De dikte van de rolronde strengen, halverwege tusschen de eihulsels, bedroeg 5—6 mM., terwijl de afstanden van dezelfde 9 kapsels onderling, gemeten van buitenste laag tot buitenste laag, in rechten, maar onuitgerekten toestand, de volgende lengten hadden: 11—13,5—10,5—14—15—16,5—17—19 mM.

Deze afstanden waren dus zeer verschillend; de grootste, dien ik heb waargenomen, bedroeg ongeveer 35 c.M., maar door de buitengemeene uitrekbaarheid van de strengen scheen hij soms belangrijk groter te zijn; aan den anderen kant werd hij daarentegen soms zoo klein, dat 2, 3, 4 eieren in één kapsel schenen te liggen, d. w. z. dat, al was er ook één gemeenschappelijk buitenste hulsel, elk ei toch zijn eigen vochtkamer bleef behouden, die door een wand van de aanliggende werd gescheiden. Eénmaal slechts heb ik waargenomen, dat ook deze tusschenwand ontbrak en de beide eieren tegen elkaar aan in één holte gelegen waren; een nauwkeurige beschouwing leerde, dat tegen den binnenwand aan twee halvemaanvormige rudimenten van tusschenwanden voorkwamen. Daar een dezer eieren sporen van klieving te zien gaf,

die waarschijnlijk een parthenogenetische was, kon deze merkwaardige kapsel niet in formol bewaard worden, zoodat ik niet in staat ben er een photographische afbeelding van te geven. Haar maten waren 22 bij 24 m.M.

Eveneens slechts éénmaal vond ik een kapsel van normale grootte zonder ei, wel echter veel abnormaal kleine, die eveneens geen eieren inhielden, aan het begin en het einde van het synoion.

Dubbelkapsels kwamen ten getale van 12 voor; uit de getallen hieronder blijkt, dat de maten der samenstellende kapsels tamelijk veel kunnen verschillen.

	Lengte dubbel- kapsel.	lengte 1ste kapsel.	dikte 1ste kapsel.	lengte 2de kapsel.	dikte 2de kapsel.
dubbelkapsel I	28,5	12	17,5	16,5	19,5
» II	34	17	20	17	19
» III	30	15	18,5	15	19
» IV	29,5	16,5	19	13	18,5

Drie drievoudige kapsels werden waargenomen; twee daarvan hadden de volgende afmetingen:

I. 55 m.M. lang, de kapsels afzonderlijk: 17, 18 en 20 m.M. (de eieren der beide uiterste waren vervloeid en de kapsels dus misschien wat opgezwollen).

II. 53,5 m.M., elk: 18; 16,5 en 19 m.M.

Van de 3^{de} geeft plaat II een photographische afbeelding op natuurlijke grootte.

Op een van deze soort volgde de eenige vierdubbele kapsel, die in dit legsel voorkwam; ik kon haar eerst meten, nadat alle 4 eieren gebroken waren, en dus moge de mededeeling voldoende zijn, dat haar lengte 56 m.M. bedroeg. Dit gedeelte van het eisnoer, een der laatst afgezette, vertoonde trouwens meer abnormaliteiten, die ik ten deele op een andere plaats zal bespreken; nu wil ik slechts vermelden, dat de kapsels hier zeer omvangrijk waren; voor eenige opeenvolgende heb ik deze maten opgeteekend: 22 bij 25; 23 bij 26; 24 bij 24; 24 bij 25; 23 bij 25; 25 bij 27 c.M. Ook de strengen van dit deel waren omvangrijker dan normaal is; de dikte bedroeg 7, op enkele plaatsen

zelfs 11 m.M. en van het drietal »anderhalve'' kapsels — d. w. z. dubbelkapsels, waarvan slechts de ééne helft een ei bevat — kwamen twee in dit deel voor.

Tegen het einde van het synoion deed zich een groote onregelmaticheid voor, waarvan de volgende opgave een overzicht geeft: kapsel met ei — 350 ¹⁾ — 114 — groot en klein leeg kapsel — 37 — kapsel met ei — 125 — leeg kapsel — 19 — leeg kapsel — 21 — kapsel met ei — 123 — klein leeg kapsel en kapsel met ei — 90 — kapsel met ei — 115. Nu volgden op zeer verschillende afstanden van elkaar 40 leege kapseltjes; naar het einde toe namen zij regelmatig in grootte af, van 17 bij 15 m.M. tot 7 bij 6 m.M.; de laatste veroorzaakten dus geen verdikking meer van de streng, maar vormden slechts een holte daarin.

Op plaat I, II en III vindt men photographieën van een en ander, dat hierboven beschreven is.

Mij resten nog eenige woorden over de vorm- en volumenveranderingen van de kapsels. Uit metingen blijkt, dat de strengen, wanneer zij twaalf uur oud zijn, niet dikker worden, maar of zij bij de geboorte dunner waren dan toen ik ze voor het eerst kon onderzoeken, is mij onbekend. Ik heb reeds medege-deeld, dat de kapsels haar oorspronkelijken vorm — ovaal in de richting van de lengteas van de strengen — spoedig in een dwars-ovalen veranderen. Den 19^{den} September, 's avonds half 9, dus 6 etmalen na het leggen, leverden eenige opvolgende eieren van een willekeurig genomen snoer de volgende maten: 18,5 bij 19; 19,5 bij 19; 17,5 bij 19,5; 19,5 bij 19; 19,5 bij 19,5; 18,5 bij 18,5; en op 27 Sept. kreeg ik de volgende: 19 bij 23; 22 bij 22; 21 bij 20; 21 bij 22; 22 bij 24 m.M. Vergelijken we deze beide reeksen met die van pag. 5, dan constateeren wij de geleidelijke volumentoename; hoogstwaarschijnlijk is deze het gevolg van de wateropname door de laag, die het ei onmiddellijk omgeeft. Zooals ik reeds meermalen deed opmerken, wordt deze laag voorgesteld

1) De getallen stellen de lengte van de verbindingsstrengen voor in m.M.

door de vloeistof in de holte van een oudere kapsel; in een pasgelegde evenwel is zij niet dun vloeibaar, maar bezit zij de consistentie van gestolten gelatine, zoodat bij rotatie van de kapsel het ei belet wordt de laagste plaats in te nemen.

De knooppunten, die ISHIKAWA beschrijft, en waarvan hij de plaatsen aanwijst op zijn plaat III, heb ik aan het mij ten dienste staande snoer niet kunnen vinden.

Aan de levende eikapsel kunnen we met het ongewapende oog de volgende lagen onderscheiden:

- 1°. Een buitenste, structuurlooze en zeer doorschijnende, 0,5—1 m.M. dik, die zich op de verbindingsstrengen voortzet. Nadat de kapsels eenige dagen in het water gelegen hebben, worden op dit geleachtige omhulsel evenwijdige lijnen zichtbaar, doordat stofdeelen uit het water zich in te voren wel aanwezige, doch onzichtbare gleufjes hebben vastgezet, en wanneer nu twee kapsels in tegengestelde richtingen gedraaid worden, vertoont zich het beeld van een spiraal; maar in bijna ieder geval is deze gemakkelijk recht te draaien, en de streng terug te brengen tot den toestand van een cylinder, waarop zich lijnen bevinden, evenwijdig aan de lengteas. Over het ontstaan van deze gleuven kan ik niets zekers mededeelen, daar mij de gelegenheid ontbreekt een onderzoek in te stellen naar den histologische bouw van de volwassen vrouwelijke urogenitaalorganen, en een dergelijk onderzoek mij uit de literatuur niet bekend is; men zou evenwel kunnen verwachten, dat de klieren in dat deel van den oviduct, waar dit hulsel wordt afgescheiden, in lengterijen geplaatst zijn, zooals STÜVE en ook LEBRUN dat aangeven voor andere Urodelen, en dat het synoion in deze oviductafdeelingen een rechte lijnige, schuivende beweging maakt. Gedurende sommige oogenblikken echter heeft het een roteerende moeten ondergaan, want op enkele gedeelten er van komt een spiraalvormig verloop van evenwijdige lijnen voor, dat niet terug te draaien is; vooral aan het eerst gelegde deel van het snoer is dit verschijnsel zeer duidelijk; over een afstand van een centimeter werden daar 4

windingen geteld. Uit de beschrijving, die ISHIKAWA van deze buitenste laag geeft, moet opgemaakt worden, dat hij als norm vond, dat de richting der spiraallijnen aan de eene eikapselpool tegengesteld is aan die van de andere; aanvankelijk meende ik, dat dit bij het mij ten dienste staande synoion nooit het geval was, daar bij alle onderzochte kapsels de richtingen der beide spiralen dezelfde bleken te zijn; bij het teekenen werd echter één ei gevonden, dat aan ISHIKAWA's beschrijving voldoet: van de eene streng gaan de spiraalwindingen in dezelfde richting over op de kapsel, maar dicht bij de tegenovergestelde pool veranderen zij van koers en zetten zich dan op de andere streng voort (pl. IV, fig. 1). Deze kapsel was echter een van de allereerst gelegde, en bevond zich terstond achter het bovenbeschreven onontwarbare kluwen van strengen en kleine kapseltjes; ook werd op de strengen van dit hulsel het zeer groote aantal windingen geteld, dat daareven werd opgegeven. Daarom komt het mij voor, dat wij hier met een abnormaliteit te doen hebben, en dat de richting der rotatie, waarvan ik het plaats vinden op sommige oogenblikken meende te moeten aannemen, op dit eerste deel van het synoion nog onbepaald is geweest, en toevallig op deze kapsel een verandering ondergaan heeft. Waarschijnlijk heeft ISHIKAWA een dergelijk ei onder het oog gehad. Het lijkt mij onwaarschijnlijk, dat alle eieren van een legsel dit beeld zouden vertoonen; daartoe toch zou aangenomen moeten worden, dat bij elk ei de roteerende beweging van richting verandert. Bij mijn synoion is dit zeker niet het geval geweest.

2^o. De volgende laag, bij verschillende kapsels in dikte varieerend van 1—4 mM., blijkt zelve laagsgewijze gebouwd te zijn; zij heeft de tint van zeer doorschijnend porcelein, doordat 15—20 melkwitte, evenwijdige strepen (op de optische lengtedoorsnede!) — op coupes zal blijken, dat het slechts één opgerolde strook is — alterneeren met een even groot aantal iets dikkere strepen van een doorschijnende grondstof.

Zij is hecht verbonden met de eerste laag; licht men de laatste met een pincet op, dan volgen de strepen van de

tweede terstond, waarbij die van de heldere grondstof veel uitrekbaarder blijken te zijn dan de dunnere melkwitte. Op de optische doorsnede ziet men al deze strepen naar de polen toe convergeeren en aldus het axiaaldeel van de strengen vormen, dat in enkele gevallen als een wrong op de kapsel gelegen is; deze wrong blijft zijn vorm behouden door laag 1, die later er omheen afgescheiden werd; cf. fig. 4, plaat IV. De laagsgewijze samenstelling van het axiaaldeel der strengen is verloren gegaan in het centrum van dat deel van het synoion, dat, zooals ik boven beschreven heb, zich kenmerkt door zeer groote eikapsels en dikke strengen. Deze geven binnen de strepen van laag 2 nog een as te zien, die omhuld wordt door een even sterk lichtbrekende laag als de, hierna te bespreken, laag 4 van de kapsels, zoodat er een bedriegelijke gelijkenis met een holle streng ontstaat; maar bij nader onderzoek blijkt, dat ook deze as soliede en uit lagen samengesteld is; bij de bespreking van de coupes zal ik nader hierop terugkomen. Het geheel komt vrijwel overeen met de beschrijving, die ISHIKAWA van de streng geeft, en met zijn fig. 17, maar bij het legsel, dat ik kon onderzoeken, vond ik het voorkomen van een „innerste Achse der Schnur” als uitzondering en niet als norm. Op. fig. 16 wordt door ISHIKAWA deze as ook niet aangegeven, noch is zij zichtbaar op plaat III.

In dit deel van het eisnoer nam ik enkele malen waar, dat sommige strepen van laag 2 van richting veranderden en als het ware terugliepen, zooals op fig. 2, pl. IV te zien is.

- 3^o. Nu volgt een laag, die macroscopisch weinig zichtbaar is; bij de besprekingen van de coupes zal ik iets meer van haar mededeelen; dan zal blijken, dat zij evenals de volgende zich niet in de strengen begeeft. Zij is zeer doorschijnend en innig verbonden met de volgende laag.
- 4^o. De vierde laag heeft sterk lichtbrekende eigenschappen, waardoor wij in staat gesteld worden te zien, dat zij een bolvormige ruimte omsluit. Zij is resistenter dan een der vorige en door maceratie in MÜLLER's vocht kan zij gemakkelijk van

de andere bevrijd worden. Met ZEISS Oc. 2, obj. D neemt men evenwijdige lijnen op haar waar, 10—20 μ van elkaar verwijderd, welke, zooals blijkt op die plaatsen, waar het vlies is dubbelgeslagen, het optische beeld van kleine gleufjes zijn.

5^o. Het binnenste gedeelte van de hulsels vormt de vochkamer, waarvan de middellijn wisselt tusschen 19 en 25 mM. Op den bodem er van ligt het ei. Bovendien komt er bijna steeds een zwevend vlokje in voor; vermoedelijk wordt dit door ISHIKAWA bedoeld, als hij van een »Samenhaufen" spreekt, maar in dit geval is die naam minder juist, aangezien ik in geen er van spermiën kon ontdekken, doch slechts de roode bloedlichaampjes en de dooierkorrels, die ook de teekening van ISHIKAWA te zien geeft. Doordat zij door een slijmige substantie bij elkaar gehouden worden, is men in staat, na het openen van de kapsel, het vlokje in zijn geheel op te nemen en op een objectglas te brengen.

Het ontbreken der spermiën er in is natuurlijk in volkomen overeenstemming met het feit, dat van alle 980 eieren van dit derde legsel geen enkele bevrucht was; evenwel blijkt er uit, dat niet de spermiën het vlokje vormen, zooals men uit den naam „Samenhaufen" zou afleiden, maar deze slechts een bestanddeel er van kunnen uitmaken. Evenals ISHIKAWA vond ik het vlokje ook in kapsels zonder eieren.

Na behandeling met chloroform en paraffine (in xylol schrompelt het mucine uitermate) werden strengen en kapsels in een richting loodrecht op, en in een, evenwijdig aan, de hoofdas, in coupes gesneden; deze behandelde ik met de volgende kleurstoffen: oranje G, saffranine, eosine, methyleenblauw, boraxkarmijn, karmalaun, DELAFIELD's haematoxyline, ijzerhaematoxyline van HEIDENHAIN, haemalaun volgens MAYER. Methyleenblauw kleurt nog eenigszins, maar wordt terstond in alcohol weer uitgetrokken; de overige kleurden niet, DELAFIELD's haematoxyline en ijzerhaematoxyline uitgezonderd, waarvan de laatste uitstekende beelden geeft, terwijl DELAFIELD's haematoxyline alleen de buitenste geleilaag doet uitkomen, maar niet de compacte lagen.

Beschouwen wij thans de coupes. Door het buitengewoon hoog watergehalte en het noodzakelijke ontwateren, geven zij geen juist beeld van natuurlijke verhoudingen en vormen van de boven beschreven lagen; toch zal blijken, dat zij zeer geschikt zijn om een inzicht van haar onderlinge ligging te verschaffen.

Op een dwarsdoorsnee door een normale streng, waaraan wij macroscopisch de lagen 1 en 2 kunnen onderscheiden, zien wij het volgende:

- a. een buitenste laagje, dat naar buiten niet door een membraan begrensd wordt; 't is 8μ dik en heeft een wolkig uiterlijk.
- b. een zwart gekleurde rand, 2μ dik, die evenwel niet op alle plaatsen voorkomt, en waarschijnlijk de verdichte buitenrand der volgende laag is.
- c. deze laag, ter gemiddelde dikte van 15μ heeft een gevlamd voorkomen, wat wijst op een laagsgewijzen bouw; zij is goed gekleurd, en wordt naar binnen niet door een membraan afgezet, maar grenst terstond aan:
- d. een lichte ruimte, opgevuld met een sponsachtig weefsel, wat op de coupes voor den dag komt als een netwerk, bestaande uit mazen van zeer verschillende grootte. Dit weefsel vormt de hoofdmassa van de streng, die doorsneden wordt door een spiraal van 15—20 toeren, bestaande uit een zeer donker gekleurde substantie; zij is de dwarsdoorsnede door de strepen, die macroscopisch worden waargenomen en nu slechts één strook blijken te zijn. Haar dikte en de afstand der windingen verschilt zeer, wat waarschijnlijk een gevolg is van de ongelijkmatige inkrimping bij het wateronttrekken, zoodat de spiraal niet overal precies dwars getroffen is. Is dit wel het geval, dan heeft zij het voorkomen van een 3μ dikken, homogeen gekleurden band. Op de plaatsen, die scheefgetroffen zijn, krijgt men den indruk, dat zij zelf nog uit lagen is opgebouwd. De afstand van haar buitenste winding tot aan laag c, is steeds eenige malen grooter dan die van de overige windingen onderling, en deze buitenste laag met de laagjes a, b en c vormen samen de laag 1 mijner beschrijving van

den macroscopischen toestand. Op sommige plaatsen splitst de spiraal zich in twee bladen, maar één daarvan gaat gewoonlijk zeer spoedig in het netwerk verloren (gevolg van de inkrimping?), of vereenigt zich weldra weer met het andere blad. Dat het b. v. gedurende een of meer windingen zelfstandig zou blijven bestaan, en zoo tot het ontstaan van een dubbele spiraal aanleiding zou geven, heb ik nooit waargenomen; altijd blijft de spiraal een enkelvoudige. In het centrum van de streng begint zij met een verdikt gedeelte, dat eerst na eenige onbestemde kronkelingen in den regelmatigigen spiraalloop overgaat. In de abnormale strengen is dit onregelmatig kronkelend gedeelte sterker ontwikkeld, waardoor het beeld van de as veroorzaakt wordt.

Een blik op fig. 6 en 7, pl. IV zal een duidelijker indruk geven dan een beschrijving doen kan.

Op coupes door de kapsels vinden wij slechts op enkele plaatsen het laagje *a*, maar altijd den donkeren rand *b*, waarop onmiddellijk de laag *c* volgt. De laatste omsluit het lagencomplex *d*, dat denzelfden bouw heeft als in de streng; alleen is de afstand tusschen *c* en de buitenste spiraalwinding hier gelijk aan dien van de overige windingen onderling, terwijl hij, zooals wij zagen, in de streng ettelijke malen grooter is.

Wanneer van een kapsel, nadat zij onder water opengeknijpt en daarna gehard is, coupes vervaardigd worden, loodrecht op de snijvlakte, dan blijkt er een groot verschil in stevigheid te bestaan tusschen de heldere strooken en de melkwitte strepen, daar de eerste veel meer samengekrompen zijn dan de laatste.

Zooals te verwachten was na de beschrijving van den macroscopisch waarneembaren bouw, komen centraalwaarts van de laag *d* nog enkele lagen in de kapsel voor, te weten:

- e.* een donker gekleurde band, 50 μ dik, die veel gelijkenis vertoont met laag *c*; dit is dezelfde als laag 3 uit de beschrijving van den macroscopischen toestand.
- f.* een zwarte rand, 5 μ dik, die de vochkamer naar buiten begrenst.

Deze beide laatste zetten zich niet in de streng voort en

zijn los aan de overige bevestigd; op weinig coupes, en dan nog slechts op enkele gedeelten er van, zijn zij in situ waar te nemen, (pl. IV, fig. 5).

Wij kunnen het bovenstaande aldus samenvatten: *het eisnoer van den reuzensalamander is rozenkransvormig; de strengen bestaan, macroscopisch beschouwd, uit twee lagen: een buitenste geleihulsel en een inwendige laag, samengesteld uit twee spiraalvormig opgerolde strooken, een van compacten en een van meer lossen bouw; de eikapsels bezitten bovendien centraalwaarts van de laatstgenoemde laag nog twee lagen en bovendien een aanzienlijke vochtkamer.*

Megalobatrachus heeft derhalve een meer gecompliceerd synoion dan mij van eenig ander Urodeel bekend is.

Van het synoion van *Menopoma alleghaniensis* was tot vóór korten tijd geen andere beschrijving in de literatuur aanwezig dan die van COPE, die schrijft, dat de eieren »are attached by two strong suspensions at opposites poles”. In April 1904 werden wij nader daarover ingelicht door een mededeeling van REESE in het *Biological Bulletin*, waaraan een afbeelding is toegevoegd. Daaruit blijkt, dat ook deze species een rozenkransvormig eisnoer heeft, welks bouw veel gelijkenis vertoont met het boven beschrevene, hoewel er eenige belangrijke verschillen zijn. Deze zijn de volgende. Op de buitenste geleilaag van de kapsel, welke zich ook op de strengen bevindt en door haar doorschijnendheid gemakkelijk overzien kan worden, volgt »the inner envelope”, die »is continued as a solid, more or less tough cord of jelly from egg to egg and binds them together in the continuous strings, that have already been mentioned”. Aangaande de samenstelling van deze »inner envelope” vernemen wij niet anders dan dat het is »a capsule of more dense jelly”, dikker n.l. dan het »watery material”, dat het ei omgeeft; een opbouw door twee om elkaar spiraalvormig opgerolde strooken van deze laag, zooals bij *Megalobatrachus* gevonden wordt, schijnt derhalve hier niet voor te komen. Centraalwaarts gaande komen wij hierna onmiddellijk aan het »small amount of watery mate-

rial"; wij missen dus de twee bolvormige lagen, de buitenste doorschijnend, de binnenste sterk lichtbrekend, die bij de kapsels van den reuzensalamander gevonden worden (3 en 4, en *e* en *f* uit de beschrijvingen van macro- en microscopischen bouw).

Ten slotte blijkt uit de afbeelding, dat de vochtkamer veel kleiner middellijn heeft dan bij *Megalobatrachus* het geval is, hoewel het ei van *Menopoma* een diameter van 6 mM. heeft en dus slechts 1 mM. kleiner is dan het reuzensalamanderei; op de teekening van REESE zijn de eieren van den »hellbender" in iets meer dan natuurlijke grootte voorgesteld (7 mM. middellijn), terwijl daarop de vochtkamers een diameter hebben van 9—10 mM.; bij *Megalobatrachus* is de verhouding van ei tot vochtkamermiddellijn een heel andere (7 bij 21). Na gelezen te hebben, dat het eisnoer uit de cloake van een *Menopoma* getrokken werd, zou men geneigd zijn deze geringe vochtholte toe te schrijven aan gebrek aan water, noodig voor het opzwellen; dit schijnt echter niet het geval te wezen, want later wordt vermeld: »There is no apparent swelling of the gelatinous envelopes in coming in contact with water as is described in connection with some other amphibian eggs."

Waarschijnlijk zal een nader onderzoek — vooral ook van coupes door streng en kapsel — aan het licht brengen, dat de verschillen in bouw van de beide synoia niet zoo groot zijn, als wij uit de ons voorliggende beschrijving van dat van *Menopoma*, vergeleken met mijn waarnemingen omtrent dat van *Megalobatrachus*, hebben afgeleid; vooral een ontbreken van laag 3 en 4 in de kapsel van *Menopoma* schijnt mij niet in overeenstemming met de nauwe verwantschap, die tusschen beide species bestaat.

Van het synoion van *Amphiuma* hebben wij een beschrijving van de hand van HAY, die éénmaal een legsel gevonden heeft. Als bij de beide vorige *Amphiumidae* is het rozenkransvormig, maar hiermede houdt ook de overeenkomst op; de doorschijnende kapsel, die een middellijn heeft van ± 9 mM. (de embryonen waren vrij ver gevorderd) is zoo dik als »a writing paper" en met de volgende verbonden door »a slender cord", ter omvang van 0.75—1.5 mM.; de afstand der kapsels bedraagt

5—12 mM. Een vochkamer, waarin het ei, respectievelijk het embryo zich vrij kan bewegen, ontbreekt.

In de literatuur vinden wij verder, dat het synoion van *Desmognathus fusca* een rozenkransvorm heeft. Het schijnt mij echter, dat dit nog niet voldoende bewezen is. BAIRD zegt, dat »the eggs are laid in a long string,” en later COPE: »As in the Anurous genus *Alytes*, the eggs, on emission, are connected by an albuminous thread, which soon contracts and hardens.”

Maar WILDER, die nog wel beweert »to confirm these statements,” schrijft: »The eggs, which showed then no signs of development, and which must have been just laid, were, indeed, wrapped about the body of the parent, but not in a definite single string. Each was surrounded by a loose outer membrane, which tapered at one end to a strong cord, and several or all of these cords seemed to focus at a single point, much like a bunch of toy balloons held in the hand of a streetvender.” Ook zijn afbeelding toont een eikapsel, welks buitenste hulsel slechts aan één pool in een streng overgaat. Vermoedelijk gelijkt dit synoion dus zeer op dat van *Autodax lugubris*, waarvan RITTER en MILLER een teekening gegeven hebben.

In de andere recente orden der Amphibieën wordt ook in enkele gevallen de rozenkransvorm van het synoion waargenomen.

Die Apoda, waarvan bekend is, dat zij eieren leggen, hebben alle — het zijn er trouwens maar drie — een dergelijk eisnoer. Reeds lang geleden beschreven P. en F. SARASIN het voorkomen er van bij *Ichthyophis glutinosus*, maar, volgens hun beschrijving, is het geheel anders samengesteld dan het synoion van *Megalobatrachus*. Het ei ligt namelijk niet in een vochkamer, maar wordt terstond omringd door de membrana chalazifera, welke aan de beide polen in een streng uitloopt. Deze beide strengen zijn op dezelfde wijze gedraaid als de chalazen van het vogelei, d. w. z. de spiraallijnen hebben op de eene streng een tegengestelde richting aan die op de andere, die bij hetzelfde ei behoort. 't Is te betreuren, dat niet geteekend of beschreven wordt, hoe de spiraal zich gedraagt op die punten van het eisnoer, die op

het midden tusschen twee eieren liggen; waarschijnlijk wordt op deze plaatsen de eistreng telkens geknikt, waardoor de onontwarbare eihoop ontstaat. Om de membrana chalazifera en de chalazen wordt nog een buitenste, structuurlooze eiwitlaag van 1 mM. dikte afgescheiden.

Aangaande de synoia van *Hypogeophis rostratus* en *H. alternans* schrijft BRAUER (1897): »Die Art der Hüllen ist dieselbe wie bei *Ichthyophis*, auch die Brutpflege findet in derselben Weise statt, indem die Mutter sich um den Eihaufen rollt.»

Door GÖLDI (1899) wordt in een kleine mededeeling bericht, dat ook het eisnoer van *Siphonops annulatus* rozenkransvormig is; »die Eier selbst waren glashell, durchsichtig»; hun grootte wordt gelijkgesteld aan die van kolibrieieren. Over den bouw van kapsel of streng wordt niets anders medegedeeld dan dat de »eieren» (de kapsels worden bedoeld, want er waren reeds verontwikkelde embryonen aanwezig) iets elliptisch gevormd zijn en 10 bij $8\frac{1}{2}$ mM. meten, en dat deze afmetingen bij elk van het zestal gevonden eikapsels dezelfde zijn. Op de afbeelding van 5 er van zien wij, dat de afstand tusschen twee kapsels ongeveer gelijk is aan de lengteas van een kapsel, en twee dun uitloopende draden de einden van het snoer vormen.

Onder de Anura is mij alleen *Alytes obstetricans* bekend als de bezitter van een rozenkransvormig synoion; de bouw er van is zeer eenvoudig. Volgens LEBRUN (1891) komen aan de kapsels buiten de »membrane vitelline» slechts een »couche interne» en een »couche externe» voor, waarvan de laatste de verbindende strengen vormt. Een derde buitenste geleilaag, zooals wij aangetroffen hebben op het eisnoer van *Megalobatrachus*, waarvan ook het ontwijfelbare voorkomen bekend is bij *Triton*, *Amblystoma*, *Desmognathus*, *Spelerpes* en *Autodax*, en het vermoedelijke bij de eierleggende *Apoden* (?), *Menopoma* (REESE), *Necturus* (FÜLLEBORN) en *Proteus* (ZELLER), ontbreekt waarschijnlijk bij alle Anuren.

Resumeerende komen wij tot de slotsom, dat vooralsnog de eierleggende Apoda, de Amphiumidae en *Alytes* de eenige Amphibiën zijn, welke een rozenkransvormig eisnoer bezitten, hetwelk

naar gelang van de soort zeer van samenstelling wisselt; misschien zal echter bij een nauwkeurig nader onderzoek blijken, dat de verschillen niet zoo groot zijn, als zij thans uit de bestaande beschrijvingen schijnen.

Al deze species — slechts van *Menopoma* weten wij het nog niet — oefenen een »Brutpflege" uit.

Of een zoodanig gevormd synoion een aanpassing is aan deze functie en wij haar als driemaal ontstaan te zijn, dus als een convergentieverschijnsel, moeten beschouwen, dan wel of het een primitief Amphibieënkenmerk is, schijnt mij een voorloopig onoplosbare kwestie.

Materiaal en Techniek.

Voordat ik tot het mededeelen van de uitkomsten van mijn embryologisch onderzoek overga, zal ik met enkele woorden mijn objecten en de methode, volgens welke zij behandeld werden, bespreken.

Het twintigtal eieren, dat ik heb kunnen bestudeeren, vond ik geconserveerd in formol 4^o/_o of pikrinezwavelzuur van KLEINENBERG (één ei in alcohol 70^o/_o); ik heb ze niet gezien vóór de fixatie en kan dus niet anders dan afbeeldingen van gefixeerde objecten geven.

Zij zijn afkomstig van het tweede legsel, dat op den 19^{den} September 1903 werd afgezet, en werden van den 21^{sten} tot den 26^{sten} September gedood. Van den 21^{sten} September waren 6 eieren aanwezig; op de andere dagen zijn echter slechts twee eieren tegelijkertijd gefixeerd, tengevolge waarvan ettelijke belangrijke stadiën gemist worden; vooral van de jongere ontbreken er vele, zooals later blijken zal. De verwachting, dat ik door het legsel van dit jaar in het bezit zou komen van een onafgebroken serie van alle ontwikkelingsstadiën, werd door het uitblijven van de bevruchting, dat hierboven vermeld is, niet vervuld; ik moest mij dus tevreden stellen met de betrekkelijk onvolledige serie van het vorige legsel, waarvan bovendien enkele zich in geen

handen; ware dit mij eer bekend geweest, dan zou het mij veel tijd en moeite bespaard hebben, daar hij twee methoden beschrijft, volgens welke men van zeer dooierrijke eieren coupes kan verkrijgen. De volgende regelen zijn zonder eenige verandering geheel van toepassing op het *Megalobatrachus*-ei en de behandeling er van: „The investigation of a holoblastic egg 7 m.m. in diameter and packed with yolk involves great technical difficulties, as the whole of each egg has to be converted into thin sections. The full extent of these difficulties will only be appreciated by embryologists, who have essayed a similar task.”

Aangezien ik een dergenen ben, wien het volle gewicht dezer moeilijkheden zwaar gedrukt heeft, en aan latere onderzoekers deze moeilijkheden besparen wil, zal de door mij gevolgde methode in extenso medegedeeld worden, daar zij in enkele opzichten eenvoudiger is dan die van KERR.

In den beginne meende ik, dat, evenals men er in geslaagd is de eieren der Europeesche Anuren en zelfs van *Amblystoma* zóó te behandelen, dat het lintsnijden met goed gevolg op hen toe te passen is, ook voor deze Amphibieëneieren een modificatie van een der bekende methoden te vinden zou zijn, die aan den eisch zou voldoen. Ik wil niet ontkennen, dat, wat ik zocht, te vinden is; maar ik meen toch te mogen zeggen, dat de waarschijnlijkheid daarvan niet zeer groot is, want na lang zoeken is het mij niet gelukt een bruikbare te ontdekken, hoewel ik tallooze proeven gedaan heb met xylol, chloroform, terpentijn en cederolie als intermediën. Weldra bleek mij, dat, al liet men het ei (gewoonlijk experimenteerde ik met rijpe ovariaaleieren van *Salamandra maculosa*, daar het *Megalobatrachus*materiaal zeer klein was) kort of lang in de paraffine, langs dien weg geen bruikbare coupe verkrijgen kan worden; evenals bij alle dooierrijke eieren wordt ook hier door een eenigszins lang verblijven in paraffine van 52° de dooier brokkelig; de gewone objecten (*Rana*-, *Triton*-, *Amblystoma*-eieren) zijn evenwel van zoodanige grootte, dat zij, na een geschikte voorbehandeling, in 10 of 20 minuten voldoende met paraffine doordrenkt zijn en in dezen korten tijd is de dooier

nog niet brokkelig geworden; mijn object was evenwel te groot voor deze methode; bij een kort verblijf in den thermostaat drong de paraffine niet voldoende in en bij een langer trad het bekende euvel op.

Ik greep toen naar het bekende middel, i. e. het paraffineblok na elke coupe bestrijken met een dunne laag van 1% celloidine, opgelost in gelijke deelen aether en absoluten alkohol; doch ook aldus bleven niet alle dooierkorrels op haar plaats; bovendien scheen het mij, dat door de warmte deze zich verder van elkaar verwijderen dan in het levende ei het geval is; duidelijk blijkt dit bij vergelijking van een dusdanige paraffinecoupe met een celloidinecoupe, waarin alle korrels dicht naast elkander liggen.

Heb ik deze vergeefsche proefnemingen ter waarschuwing medegedeeld, thans zal ik overgaan tot de methode, die ik ten slotte gevolgd heb.

De eieren laat ik minstens 3 etmalen in boraxkarmijn van GRENACHER ¹⁾, spoel ze gedurende 10 min. af in zuren alkohol (op 100 deelen alk. 70% 5 druppels zoutzuur, wasch ze gedurende minstens 24 uur uit in alkohol 70%, breng ze vervolgens voor nagenoeg 6 uur in 90%, en ontwater ze gedurende een etmaal in absoluten alkohol, die een of twee maal ververscht wordt. Daarna komen zij voor een uur of 12 in een mengsel van gelijke deelen absoluten alkohol en aether, en daarop in een 2% oplossing van winddroge, hoornige celloidinespaanders in een gelijk mengsel van aether en alkohol absolutus; hierin blijven zij 2×24 uur, en gedurende een gelijk tijdsverloop in een 4% en vervolgens even lang in een 8% oplossing. Deze behandeling geschiedt het best in wijdmondsche flesschen met ingeslepen stop, zoodat luchttoetreden geheel buitengesloten is.

Na het 48-urige verblijf in de 8% oplossing giet ik de objecten in een kurkdroog glazen bakje met gladden bodem, waarin zooveel celloidine is, dat de hoogte er van ettelijke malen die van het

1) Een uitstekende kleuring krijgt men ook door zuren haemalaun volgens MAYER gedurende 4 of 5×24 uur aan te wenden, vervolgens eenige uren uit te wasschen in gedestilleerd water en minstens 24 uur in leidingwater.

voorwerp overtreft; zijn door het gieten luchtblazen ontstaan, dan wordt het bakje met een glasplaat toegedekt; in de kleine afgesloten ruimte tusschen celloidine en plaat verzamelt zich de ontwijkende aetheralkoholdamp, welke de celloidine week houdt, waardoor zeer spoedig de luchtblazen omhoog stijgen en verdwijnen.

Wanneer dit geschied is, en de celloidine een volkomen helder, homogeen uiterlijk heeft verkregen, wordt het deksel verwijderd en het bakje onder een glazen stolp geplaatst, die men om de 4 uur even oplicht, ten einde de aetheralkoholdampen te laten ontsnappen. Na 24 uur is de consistentie van de celloidine voldoende hard, en wordt de oppervlakte er van met een laag chloroform, ter hoogte van een $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ c.M., overgoten. Na verloop van een etmaal is de massa snijdbaar; ik laat vervolgens om het object zooveel celloidine, dat een blok van geschikte grootte overblijft, en droog de afgesneden celloidine goed, om haar weer te kunnen gebruiken. Een der zijden van het celloidineblok, aangebracht op een afstand van slechts een paar m.M. van het ingesloten voorwerp, wordt met aether bevochtigd, en eveneens de korte zijde van een houten parallelepipedum; beide worden met wat dikke celloidine-oplossing aan elkaar geplakt; het geheel komt ter harding van de voor het plakken gebruikte celloidine gedurende een half uur in chloroform.

De verdere behandeling is ongeveer gelijk aan die van GAGE; men geeft het blok een handige vorm, d. w. z. dien van een stompe, zoo mogelijk gelijkzijdige pyramide, zoodat het snijvlak een vierkant of ten minste een rechthoek voorstelt. Het blok wordt nu zoo hoog mogelijk gehangen in een mengsel van 3 deelen xylol en 1 deel ricinusolie, waarin het na eenige uren de helderheid van spiegelglas aanneemt; het staan op een warme plaats, b. v. op den thermostaat, versnelt dit ophelderingsproces zeer. Nu kan men het object in den microtoom instellen; men snijdt met zoo scheef mogelijk mes, dat flink nat gehouden wordt met een mengsel van 4 deelen xylol en 1 deel ricinusolie. Op het mes wordt elke coupe met een naald vastgehouden, met een penseel ontrold, en alle coupes in volgorde gerangschikt

op een niet gebruikte plaats van het mes, het best aan den top. Wanneer deze ruimte vol is, wordt een groot dekglas onder tegen het mes aangebracht en met een naald de coupes een voor een daarop geschoven; is een rij vol, dan late men het mengsel, waaronder gesneden werd, goed afloopen op filtreerpapier (zoo mogelijk spoele men dekglas met coupes voorzichtig in een bakje met xylol af) en schuive met de naald elke coupe op het objectglas. Wanneer dit vol is, kan men onmiddellijk in canadabalsem insluiten. Is de ricinusolie onvoldoende verwijderd, dan wordt het hardworden van het insluitmiddel zeer vertraagd; eenigszins kan men het bespoedigen door de objectglazen voor eenige dagen in den thermostaat op een temperatuur van 40° C. te brengen. Daarom is het wenschelijk de ricinusolie zoo veel mogelijk uit te spoelen, maar dan lette men er wel op, dat de coupes op het objectglas gedurende het verder snijden niet uitdrogen, maar voortdurend met xylol vochtig gehouden worden.

Onbevruucht Ei.

Het onbevruchte ei, dat rond is, heeft een middellijn van 7 m.M.. Bij het onderzoek van het onbevruchte legsel van 1904, dat geheel door mijn handen is gegaan, is gebleken, dat in de afmetingen van de eieren van één legsel geen verschil bestaat; ook de geconserveerde eieren van het legsel van 1903 hadden alle een diameter van 7 m.M., waarbij opgemerkt dient te worden, dat de lengte van de vrouwelijke reuzensalamander ongeveer 85 c.M. bedraagt. Ook de vroegere onderzoekers geven den eivorm als bolrond op, behalve SASAKI (1887), die ovale eieren beschrijft met een lange as van 6 m.M. en een korte van 4 m.M.. ISHIKAWA ¹⁾ (1902 en 1904), die evenals SASAKI in de vrije natuur afgezette eieren heeft onderzocht, nam hetzelfde waar als de Nederlandsche auteurs, nl. dat de ronde eieren een middellijn hebben van ongeveer 7 m.M., en aan hun onderkant eenigszins zijn afgeplat door de

1) In ISHIKAWA's tweede stuk is „Dotterhaut” vervangen door „Chorion”.

bovenmatig weeke consistentie van den bijna alleen uit dooier bestaanden inhoud van het weinig stevige dooiervlies, tengevolge waarvan een ei, dat uit zijn kapsel genomen is, door zijn eigen zwaarte terstond tot een platte koek ineenzinkt.

De kleur is lichtgeel; op de animale helft gaat dit over in wit, zoodat een gelijkenis met het kiemveld van de meroblastische eieren ontstaat. Deze pool is bij onbevruichte eieren steeds naar boven gekeerd, en bij de vijf eieren, die in het derde klievingsstadium in hun kapsels gefixeerd zijn, is hetzelfde het geval. Van de oudere stadiën was ik niet in staat dit te constateeren, daar zij vóór de fixatie uit de hulsels genomen waren.

In hun levenden toestand is duidelijk zichtbaar, dat de onbevruichte eieren, behalve door de tertiaire eihulsels, die hierboven beschreven werden, nog door een ander omhuld worden, het chorion. Dit treedt vooral voor den dag, wanneer bij het ouder worden der onbevruichte eieren zich degeneratie-verschijnselen voordoen en dan de witte eipool zich als een heuvel van de gele opheft; zoo wordt het scherpomlijnde pseudokiemveld gevormd, dat op sommige van de afbeeldingen te zien is (plaat II). Ook door fixeeren wordt de grens tusschen wit en geel veel scherper dan bij het levende ei het geval is, zoodat fig. I op plaat V, welke het geconserveerde, ongekliefde en hoogstwaarschijnlijk onbevruichte ei A weergeeft, slechts de verhouding van kiemveld en eioppervlakte toont. Het komt mij voor, dat ook aan fig. 16, plaat IV van ISHIKAWA (1904) een dergelijk oud, onbevrucht ei ten grondslag ligt. Het chorion is gemakkelijk van den dooier vrij te prepareeren; onder het microscoop vertoont het fijne, evenwijdige strepen op de oppervlakte; op de coupes zien wij het meestal als een fijne, 1—3 μ dikke lijn den dooier omgeven, of bij oudere en bevruchte eieren de gleuven overspannen.

Ei A, het eenige ongekliefde van het legsel van 1903, werd 40 uur na het leggen in formol 4% gefixeerd. Zijn vorm is eenigszins veranderd; toen ik het meten kon, bedroeg de dikte slechts 4 m.M., in plaats van 7 m.M.

Het werd in verticale coupes van 15 μ gesneden volgens de

paraffinemethode. Daarin werd geen spoor van een kiemblaasje gevonden, evenwel ook niet van een manlijken of vrouwlijken pronucleus noch van een eerste of tweede poollichaampje; daar bij de oudere eieren betrekkelijk weinig verschil in ontwikkelingssnelheid werd waargenomen, en de vijf tegelijkertijd met dit gefixeerde eieren alle in het achtcellige stadium waren, bovendien op dit ei A nog de grenzen van een kiemveld gezien werden, mogen wij met een groote mate van waarschijnlijkheid aannemen, dat dit ei een onbevruucht was, en niet een bevrucht, dat in zijn ontwikkeling bij de andere is achtergebleven.

Evenals bij alle dooierrijke eieren vinden wij ook hier dooierkorrels van zeer verschillende grootte; van af onmeetbaar kleine afmetingen tot $35\ \mu$ komen alle overgangen voor; hun vormen ziet men op plaat X, fig. 5.

Zij liggen niet regelloos door elkaar, maar elke soort heeft vrijwel haar eigen gebied.

Op een mediane coupe blijkt, dat wat wij uitwendig als kiemveld hebben leeren kennen, gevormd wordt door een laag van zeer kleine dooierkorrels — hoogstens eenige μ in diameter —, die als een kap op het overige deel van het ei ligt (pl. VII, fig. I). Het middendeel van dit kiemveld — de animale pool *s.s.* — bestaat uit zeer dicht op elkaar liggende, kleinste korreltjes, zoodat het bij beschouwing met ZEISS Oc. 2, obj. A een bijna homogeen, gepointeerd uiterlijk heeft; naar de zijden en naar het centrum nemen de korrels geleidelijk in grootte toe (tot $10\ \mu$), totdat op een diepte van ongeveer $600\ \mu$, gerekend langs de hoofdas van het ei, een plotselinge overgang gevonden wordt naar een zone met grovere korrels. Denkt men zich door dit punt een lijn, loodrecht op de hoofdas en evenwijdig aan den aequator van het ei, dan stelt deze tennaastenbij de benedengrens van de fijnkorrelige kiempool voor.

De meest periphere laag van den dooier bestaat uit een mengsel van heel fijne en grove korrels, welke laatste des te groter worden, naarmate men de vegetatieve pool nadert.

Centraalwaarts van deze $\pm 40\ \mu$ dikke, periphere laag komt

de zone, die ik meen te mogen homologiseeren met de pericentrale, door GROENROOS (1895) uit het ei van *Salamandra maculosa* beschreven; het is tegen deze zone, dat het kiemveld vrij scherp is afgescheiden. Haar dooierkorrels zijn in de animale eihelft van 15—25 μ in diameter, terwijl zij in de vegetatieve tot 35 μ worden; tusschen deze grovere liggen talloze veel fijnere. Zij ligt als een schaal van ongeveer 800 μ dikte om een centrale massa, die bestaat uit zeer dicht tegen elkaar liggende korrels van ten hoogste 15 μ in diameter.

De bovenste helft van het kiemveld wordt op een dertigtal coupes in den omtrek van het mediaanvlak doorbroken door een driehoek, bestaande uit dergelijk materiaal als de onderste helft van het kiemveld opbouwt; deze driehoek begint met een basis van ongeveer 600 μ , heeft zijn top naar de eioppervlakte gekeerd en bereikt op eenige coupes zelfs geheel de peripherie. Hij is duidelijk afgescheiden van het omringende kiemveldmateriaal, zooals op pl. X, fig. 1 gezien wordt. Welke beteekenis deze kegel heeft, kan ik niet zeggen; was een poollichaampje aanwezig, dan zou het voor de hand liggen aan te nemen, dat het kiemblaasje bij het opstijgen deze vrij grove dooierkorrels meegesleurd had; een dergelijk feit meende GROENROOS te kunnen constateeren op coupes door een ovariaalei van *Salamandra maculosa*, waar derhalve nog een kiemblaasje voorkomt; maar, zooals reeds werd opgemerkt, bij dit ei kan noch een poollichaampje noch een vrouwelijke pronucleus worden waargenomen.

Van de onbevruichte eieren van 1904 werden eenige gefixeerd in een mengsel, dat bestaat uit één deel geconcentreerde waterige sublimaatoplossing met 10% azijnzuur en één deel 10% formol; na uitgewasschen te zijn met alcohol 70%, waaraan eenige druppels joodtinctuur waren toegevoegd, werden zij gebracht in alcohol 90%, daarna in alcohol absolutus, vervolgens weer terug in alcohol 90% en 70%, gekleurd met boraxkarmijn en volgens de celloidinmethode in coupes gesneden. Vergeleken met de paraffinecoupes door ei A blijken zij de dooierkorrels meer in haar natuurlijke verhoudingen bewaard te hebben; de ruimten

er tusschen zijn hier niet zoo groot als daar, wat waarschijnlijk een gevolg is van het vermijden van hooge temperaturen.

De dooierlagen vertoonen zich overigens op dezelfde wijze als bij ei A; slechts de kegel, die zich in het midden van het kiemveld van dat ei bevindt, ontbreekt bij deze eieren. Daarentegen vond ik bij een hunner een centraalwaarts gericht uitsteeksel van de bovenste helft van het kiemveld, die door de kleinste korreltjes samengesteld is. Het bereikt de pericentrale zone niet, maar eindigt plotseling in het meer centrale kiemvelddeel. Het is zichtbaar op een tiental ongeveer mediane coupes.

De vraag, of dit misschien een begin of een rudiment van een latebravorming is, zooals P. en F. SARASIN gevonden hebben in het ovariaalei van *Ichthyophis*, moet hier onbeantwoord gelaten worden.

Ook in geen dezer eieren kon een kern of een poollichaampje gevonden worden.

Het onbevruichte ei bestaat derhalve in hoofdzaak uit: *een zeer fijnkorrelig kiemveld, dat in het midden het dikst is; een periphere zone; een pericentrale zone, en een centrale massa.*

Derde Klievingsstadium.

Tot dit stadium moet ik terstond overgaan, daar eieren met twee en met vier blastomeren zich niet onder mijn materiaal bevinden. Daarentegen is een vijftal met acht blastomeren aanwezig, dat 40 uur na het leggen in formol 4% gefixeerd werd.

Op plaat V fig. III, IV, V, VI, VII vindt men de afbeeldingen dezer eieren, gezien van de animale en van de vegetatieve pool, terwijl bij fig. II de animale pool van een levend ei uit dit stadium voorstelt; van dit object heb ik evenwel alleen de teekening gezien, daar het ei zelf verloren ging bij een poging de onderzijde naar boven te keeren.

De animale polen van dit zestal — hoe verschillend vorm en grootte der afzonderlijke blastomeren ook mogen zijn, —

hebben gemeen, dat geen der gleuven eenige neiging vertoont een latitudinaal verloop te nemen, maar dat alle ten naasten bij meridianen van den eibol voorstellen. Dat de wijde der gleuven verschilt, naarmate zij ouder of jonger zijn, zooals bij andere eieren (*Amia*, *Salamandra*) het geval is, kon ik aan mijn geconserveerd materiaal niet waarnemen; derhalve kan ik over haar ouderdom niet anders beslissen dan door haar lengte en door de diepte, tot op welke zij insnijden, zooals dat op de coupes aan het licht komt.

De vegetatieve polen bieden meer verschillen; bij alle, met uitzondering van ei B^2 , komt één gleuf voor, die het ei, uitwendig tenminste, geheel in twee blastomeren verdeelt; wij nemen derhalve aan, dat deze de eerste is geweest.

Op ei B^4 is van de tweede gleuf op de vegetatieve eihelft nog niets waar te nemen, maar op ei B^3 heeft een helft van die gleuf, welke wij als de tweede mogen beschouwen, den aequator overschreden, en is zij zichtbaar geworden op de vegetatieve pool.

Op de eieren B^5 en B^6 is ook de andere helft van de tweede gleuf tot op de vegetatieve eihelft voortgedrongen. De gleuven, die ontstaan zijn door de derde kerndeeling, liggen bij al deze eieren nog op de animale eihelft.

Slechts van de eieren B^3 en B^4 bezit ik coupe-serieën, vervaardigd na behandeling met cederolie en paraffine, terwijl vóór het snijden van elke coupe het blok bestreken werd met een 1% celloidineoplossing. Aangaande de andere achtcellige eieren moet ik mij bepalen tot het afbeelden van hun uitwendigen vorm.

Op plaat V, fig. IV. A, voorstellende de animale eihelft van ei B^3 , zien wij, dat de eerste gleuf, $\alpha\beta$, en de tweede, $\gamma\delta$, elkaar onder rechte hoeken snijden, zonder een breuklijn te vormen. $\alpha\beta$ omspant het ei geheel, terwijl van de tweede gleuf δ slechts een klein gedeelte beneden den aequator zichtbaar is. De tertiaire gleuven hebben den evenaar nog niet bereikt, behalve ϵ , welke hem echter niet overschrijdt. Geen hunner gaat door de animale pool, maar alle hebben hun beginpunt op een der helften van de eerste en tweede gleuf. Slechts γ mist een tertiaire gleuf, terwijl β twee der jongste gleuven van zich laat afgaan.

ϵ is nog bijna een meridiaan van het ei; met ζ is dit minder het geval, terwijl η en ϑ , die ongeveer in elkaars verlengde liggen, een gedeelte van een kleinen cirkel voorstellen, evenwijdig aan $\gamma \delta$.

Dit ei B³ werd in horizontale richting in coupes van 10 μ gesneden, die op het objectglas met carmalaun gekleurd werden. Het aantal der coupes is 448.

De laatste coupe, d. w. z. die, welke de vegetatieve pool treft, bestaat uit twee cirkelsegmenten met afgeronde hoeken, welke met de koorden tegen elkander liggen; beide worden natuurlijk gezamenlijk door de cirkelvormige doorsnede van het chorion omgeven.

Coupe 409 vertoont een periphere laag, ongeveer 160 μ dik, van denzelfden bouw als de periphere zone in het onbevuchte ei A, die, zooals wij zagen, bestaat uit zeer fijn dooier-materiaal, waarin veel grove dooierkorrels gelegen zijn.

Deze laag omgeeft de pericentrale laag I (meer centrale lagen zijn nog niet getroffen), die doorsneden wordt door een rechte strook, circa 200 μ dik, liggend in een middellijn van de coupe, en bestaande uit hetzelfde materiaal als de periphere zone, waarmee zij op de plaatsen α en β verbonden is. Doordat de pericentrale zone I op dezelfde wijze opgebouwd is als in ei A, nl. door vele grove korrels met fijnere er tusschen, krijgt men den indruk, alsof op de plaatsen α en β de periphere laag naar binnen gedrukt is om een wand te vormen in de pericentrale zone I.

Deze rechte strook geeft de plaats van de eerste gleuf, $\alpha \beta$, aan.

De serie naar de animale pool vervolgende, neemt men waar, dat deze wand geleidelijk in dikte afneemt, vooral op een plaats, die op $\frac{1}{3}$ van den diameter van punt α verwijderd is, waar hij dan ook, ongeveer op coupe 400 — een scherpe grens is niet aan te geven — doorbroken wordt. Wij hebben derhalve dit beeld, dat twee wiggen van fijn materiaal, met de punten naar elkander toe gewend, in de grove korrels van de pericentrale laag I liggen, terwijl de eene eenige malen dieper indringt dan de ander. Deze asymetrie is waarschijnlijk hiervan het gevolg, dat de snij-

richting niet precies evenwijdig aan het aequatoriaalvlak is.

In de buurt van coupe 315 treedt gleuf δ op, onder den vorm van een klein driehoekje, dat loodrecht van de oppervlakte naar binnen dringt halverwege tusschen α en β .

Op coupe 280 ziet men, dat in die helft van het ei, waarin gleuf δ gevonden wordt, in de pericentrale zone I een halfovale vlek optreedt, welker rechte zijde bijna evenwijdig gaat aan de richting van de eerste gleuf, en die bestaat uit dichtopeenliggende dooierkorrels van 10—15 μ zonder bijvoeging van andere. De ligging van deze vlek is zeer excentrisch; van de peripherie ter hoogte van δ is zij 600 μ verwijderd, doch haar rechte zijde raakt nog niet die middellijn van de coupe, die aan haar evenwijdig loopt.

Op coupe 257 treedt een dergelijke vlek op in de andere helft, van de eerste derhalve gescheiden door een strook van grove korrels van de pericentrale zone I. Op de volgende coupes vereenigen deze vlekken zich met elkaar, het eerst de naar β gekeerde gedeelten er van, vervolgens die, welke aan de zijde van α liggen, terwijl de centrale deelen nog onvereenigd blijven; aldus wordt een ronde vlek van grof materiaal omsloten door een ring van fijn. De binnenste grofkorrelige vlek verdwijnt spoedig, waaruit blijkt, dat de fijnkorrelige massa — ik noem haar de pericentrale zone II — eenigermate den vorm van een klok heeft, waarvan de randen, rechts en links van de eerste gleuf α β , dichter bij de vegetatieve pool liggen, dan de strook boven die gleuf, die door de laatste naar binnen gedrukt is.

Ter weerszijden van het eerste klievingsvlak verschijnt ter hoogte van coupe 220 in de pericentrale zone II een band, bestaande uit dooierkorrels van hoogstens 10 μ , die zeer dicht samengepakt liggen. Op de volgende coupes vereenigen deze beide banden zich zoodanig, dat een ring ontstaat, welke een vlak omsluit van het dooiermateriaal, dat de ring onmiddellijk omgeeft, nl. van de pericentrale zone II. Deze ring vernauwt zich meer en meer en verdwijnt ten slotte geheel, zoodat wij op coupe 175 van buiten naar binnen gaande de volgende lagen waarnemen:

periphere zone, fijn materiaal met enkele grove korrels,
pericentrale zone I, veel grove losliggende korrels, vermengd
met fijne,

pericentrale zone II, homogeen; korrels 10—15 μ ,
centrale massa, homogeen; korrels hoogstens 10 μ .

Op coupe 166 vindt men de eerste aanduiding van een klievingsholte, waarvan de onderste grens dus ongeveer 1,5 m.M. van de animale pool verwijderd is. Zij treedt op als een 140 μ lange gleuf, aan drie zijden omsloten door de centrale massa en aan de vierde door de pericentrale zone II; na 11 coupes evenwel grenst zij slechts met één kant aan de centrale massa, en is dus hier niet in, maar naast deze gelegen. Op coupe 137 is de centrale massa geheel verdwenen, zoodat daar de klievingsholte, die aanmerkelijk grooter is geworden, geheel begrensd wordt door de pericentrale zone II.

Op coupe 94 is de klievingsholte niet meer zichtbaar; zij heeft dus een hoogte van ongeveer $\frac{3}{4}$ m.M.

Op deze hoogte is niet overal een scherpe grens aan te geven tusschen de pericentrale zones I en II; evenals in het onbevruichte ei (pag. 26) zijn ook in dit ei de korrels van de pericentrale zone I bij de animale pool kleiner dan in de vegetatieve eihelft, waardoor de buitenste en de binnenste pericentrale zone hier en daar zeer geleidelijk in elkaar overgaan.

Sommige gedeelten van deze coupes bestaan uit zeer fijn materiaal: aangesneden stukken van het kiemveld, dat door de verschillende diepten der acht gleuven, zooals hierna beschreven zal worden, niet meer den regelmatigen vorm bezit, dien het in het onbevruichte ei heeft.

Vermeld moet nog worden, dat, voor zoover de grens zichtbaar is, de pericentrale zone II niet in alle vier der segmenten, welke ter hoogte van het benedendeel der klievingsholte zichtbaar zijn, even snel afneemt, en dat zij het langst blijft bestaan in quadrant $\alpha \delta$; deze naar de animale pool gerichte uitwas van de pericentrale zone II zullen wij weervinden bij ei B¹.

Deze ietwat breedvoerige beschrijving van bouw en onderlinge

ligging der dooierlagen was noodig om in de volgende regelen gemakkelijk te kunnen aanduiden tot hoever de gleuven indringen, tot de beschrijving waarvan ik thans over ga.

Ik wees er reeds op, dat ongeveer op coupe 400 de strook van fijn materiaal, die de punten α en β van de eerste gleuf verbindt, op één plaats verbroken is, wat dus aanwijst, dat aan de vegetatieve pool de eerste gleuf niet verder dan tot dit punt is doorgedrongen, nl. tot op een diepte van een halve m.M. en dat zij aan den kant van β veel dieper insnijdt dan aan dien van α . Gaat men naar de animale pool, dan ziet men de driehoektoppen meer en meer van het centrum terugwijken, evenwel slechts zeer langzaam, wat vooral daar blijkt, waar de pericentrale zone II is opgetreden, die door haar compactheid aan het doorsnijden der gleuven groote moeilijkheden in den weg legt.

Een blik op pl. VII, fig. 2 B doet zien, dat het oppervlak van de pericentrale zone II tusschen twee gleuven (δ is inmiddels ook opgetreden) dichter bij de eiperipherie ligt dan juist op de hoogte van de gleuven; wij ontvangen den indruk, alsof het fijne materiaal van den indringenden driehoek het grove van de pericentrale zone I voor zich uit schuift, en dit laatste weer een inham maakt in de pericentrale zone II.

Beschouwen wij een der driehoeken met immersiesysteem en compensationsocular, dan zien wij tusschen de fijne dooierkorrels nagenoeg altijd ¹⁾ een donker gekleurde streep liggen; bij de eiperipherie splitst zij zich in tweeën, vormt de wanden van de gleuf, die bij beschouwing van het uitwendige zichtbaar is, en zet zich voort op de eioppervlakte als een even dun, donker gekleurd lijntje. Bij de volgende gleuf dringt dit weer naar binnen en herhaalt zich hetzelfde. Bij de vergelijking met andere eieren zal nader hierop teruggekomen worden.

Aan den top van den fijnkorreligen driehoek, die centraal ligt,

1) Ik zag het ook bij alle volgende eieren, behalve bij dat, hetwelk met azijnzuren alaunkarmin gekleurd was.

eindigt deze streep niet, maar zij is te vervolgen tusschen de grove korrels van de pericentrale zone I door, en ter hoogte van de klievingsholte zelfs in de pericentrale zone II. Het baant derhalve als 't ware den weg voor den indringenden fijnkorreligen driehoek.

Over de structuur van deze streep kan ik geen beslist oordeel uitspreken; meestal schijnt zij homogeen, doch op sommige plaatsen meent men een samenstelling uit minimaal kleine korreltjes te herkennen.

Ik beschouw haar als de doorsnede van de grenslaag van het protoplasma, dat de blastomeren aan hun oppervlakte en op die gedeelten, waar zij van elkaar gescheiden zijn, begrenst.

Op coupe 248 is ook γ verschenen; evenals δ groeit deze gleuf op de volgende coupes geleidelijk aan, terwijl α en β vrijwel gelijk blijven, nl. wat haar fijnkorrelige driehoeken betreft; haar protoplasmalijntjes dringen steeds dieper centraalwaarts. Dat van β bereikt op coupe 171 de plaats, waar 5 coupes later de klievingsholte te voorschijn komt, evenwel niet in de gedaante van een scherp gecontoureerd lijntje, maar als een lichter gekleurd plasma-strookje, dat geleidelijk in het eerste overgaat. Op coupe 167 is duidelijk zichtbaar, dat de plasmalijn zich op de genoemde plaats splitst, en zoo de wanden van de holte vormt, die evenwel, waarschijnlijk door de warmte bij het insmelten, samengekrompen zijn, en nu een holte, waarin een licht gekleurd neerslag te zien is, omsluiten. Op coupe 157 zijn aanduidingen, dat de lijntjes van α en δ zich spoedig tot aan de klievingsholte zullen uitstrekken; zij zijn er mede in verbinding op coupe 155, dus op dezelfde coupe, waarop aan den kant van δ het laatste stukje van de centrale massa verdwenen is. (Dit kleine stukje is bij segment $\delta\beta$ ingelijfd).

Op coupe 120 verbindt zich ook de plasmawand van γ met den wand van de klievingsholte, welker vorm zich iets veranderd heeft, daar nu van haar uit peripheriewaarts andere gleuven nl. ϵ en θ (plaat VII, fig. 2 C) zich voortzetten, ofschoon zij aan den eiomtrek op deze hoogte nog volstrekt niet te bespeuren zijn.

Binnen in het ei, langs de hoofdas, hebben deze gleuven derhalve een lageren breedtegraad bereikt dan op de oppervlakte. Dit is een schoone illustratie van het feit, dat het kiemveld en de periphere zone gemakkelijk door de gleuven doorsneden worden, maar dat de grofkorrelige pericentrale zone weerstand biedt.

Op coupe 106 is θ tot de oppervlakte doorgedrongen en daar zien wij dus de doorsneden van 5 blastomeren; 14 coupes verder is de klievingsholte verdwenen, en zijn duidelijk de omtrekken van alle 8 blastomeren herkenbaar. Reeds op coupe 101 zien wij ϵ aan de peripherie optreden, maar eerst op coupe 92 zijn het periphere en het centrale deel er van in verbinding. De andere gleuven verschijnen op dezelfde wijze: eerst een aanduiding in den wand van de klievingsholte, dan een insnijding in de peripherie, en ten laatste de vereeniging van deze beide deelen.

De acht kernen zijn ieder omgeven door een groote ruimte, vrij van dooierkorrels en ten deele opgevuld door een lichtgekleurd protoplasmanet; vooral aan de periphere deelen van de ruimten ligt het plasma opgehoopt en daar vinden wij ook de kernen. Deze kernhoven liggen in een kring om de klievingsholte, halverwege tusschen deze en de eiperipherie.

De kernhof van segment β η bereikt de grootste diepte, en verschijnt op coupe 98, maar zijn kern zien wij eerst op coupe 85. Deze is in een ruststadium en bestaat uit een dicht kluwen sterk gewonden chromatinedraden, liggend op de kernoppervlakte; zij meet 40 μ en is zichtbaar op drie coupes.

Zijn grootste afmeting (200 μ) heeft de kernhof onder de kern; is deze verdwenen, dan neemt ook de eerste snel in omvang af en wordt door coupe 75 niet meer getroffen; zijn hoogte bedraagt dus 230 μ .

De ligging der kernhoven ten opzichte van elkaar, benevens de verhoudingen van kernen en kernhoven, worden duidelijker door de volgende tabel:

hof van blastomeer $\beta \gamma$	verschijnt op coupe 98; is verdwenen op coupe 75.
kern „ „ $\beta \gamma$	85; „ „ „ „ 82.
hof „ „ $\gamma \gamma$	77; „ „ „ „ ?
kern „ „ $\gamma \gamma$	52; „ „ „ „ 49.
hof „ „ $\gamma \zeta$	79; „ „ „ „ 54.
kern „ „ $\gamma \zeta$	66; „ „ „ „ 62.
hof „ „ $\zeta \alpha$	84; „ „ „ „ 61.
kern „ „ $\zeta \alpha$	71; „ „ „ „ 68.
hof „ „ $\alpha \varepsilon$	79; „ „ „ „ 60.
kern „ „ $\alpha \varepsilon$	67; „ „ „ „ 62.
hof „ „ $\varepsilon \delta$	± 89 ; „ „ „ „ 70.
kern „ „ $\varepsilon \delta$	76; „ „ „ „ 71.
hof „ „ $\delta \zeta$	95; „ „ „ „ 67.
kern „ „ $\delta \zeta$	76; „ „ „ „ 72.
hof „ „ $\zeta \beta$	95; „ „ „ „ 85.
kern „ „ $\zeta \beta$	89; „ „ „ „ 86.

Hoewel de snijrichting natuurlijk niet volkomen evenwijdig is aan het aequatoriaalvlak, maar er een L_n mede maakt, en wij derhalve, om den afstand te leeren kennen tusschen twee aan den aequator evenwijdige vlakken, waarvan een door de animale pool en het andere door een der kernen gaat, het nummer van de coupe niet met 10 (dikte der coupes in μ) maar met $10 \times$ een zekere constante, die afhangt van L_n , moeten vermenigvuldigen, geeft dit lijstje toch een vrij goed beeld van de diepten, waarop zich de kernen bevinden, daar L_n zeer klein is en $\cos L_n$ bijna gelijk aan 1.

Ten eerste blijkt er uit, dat de kernen veel dichtër bij den bovenwand dan bij den bodem van de kernhoven liggen; ten tweede, dat zij in de verschillende segmenten zich op zeer verschillende diepte bevinden; ten derde, dat in de quadranten $\beta \gamma$ en $\gamma \delta$ de kerndeelingsfiguur, die aan dit stadium voorafging, een zeer scheeven stand ten opzichte van het aequatoriaalvlak heeft moeten innemen.

Fig. V A en B, plaat V stelt ei B^4 voor; het is het meest regelmatig gekleefde van dit stadium en tevens waarschijnlijk het minst ver ontwikkelde, daar alleen de eerste gleuf ($\alpha \beta$) is voortgeschreden tot aan de vegetatieve pool, waar haar beide helften zich met elkaar hebben verbonden zonder een breuklijn te vormen,

terwijl noch de gleuven van het 2^{de} stadium (γ en δ) noch die van het 3^{de} (ϵ , ζ , η en ϑ) op de vegetatieve eihelft zichtbaar zijn.

Fig. V A geeft de animale eihelft weer; door de eerste gleuven, die slechts een zeer korte breuklijn gemeen hebben, wordt zij vrij zuiver in vier quadranten verdeeld, hoewel slechts III + IV en VII + VIII aan de oppervlakte elkaar aanraken, en I + II en V + VI van de pool en van elkaar verwijderd houden. De richtingen van $\alpha\beta$ en $\gamma\delta$ snijden elkaar onder rechte hoeken. Denkt men zich de gleuven van het 3^{de} stadium, ϵ , ζ , η en ϑ zoover verlengd, totdat zij elkaar snijden, dan vormen zij ook een kruis, dat tennaastenbij de hoeken halveert, die door het eerste gevormd zijn. Het snijpunt van het kruis, gevormd door de eerste en tweede gleuven, en dat van het kruis der tertiaire gleuven vallen niet samen, daar dat van het laatste zich links van de pool bevindt, en den schijn heeft verplaatst te zijn over gleuf δ , als ware dit kruis een samenhangend geheel.

γ en δ bereiken beide de peripherie van de figuur, maar zijn slechts zoo weinig verder ontwikkeld, dat zij niet gezien worden op de vegetatieve eihelft; hetzelfde is bij de jongere gleuven het geval met η , terwijl ϵ , ζ en ϑ zich in haar geheel nog op de animale zijde bevinden. Aangaande haar plaats van samenhang met de oudere, moet er op gewezen worden, dat δ in verbinding is èn met ϑ èn met η , terwijl γ geen tertiaire gleuven van zich laat afgaan. Er bestaat dus eenige symmetrie ten opzichte van $\gamma\delta$.

Dit ei werd behandeld als ei B³, en in vertikale coupes van 15 μ gesneden, welke op het objectglas gekleurd werden, deels met Delafield's haematoxyline, deels met säurefuchsine en ten deele met ijzerhaematoxyline. Het laatste brengt het duidelijkst de onderlinge ligging en verdeeling van de dooiersoorten te voorschijn, daar het materiaal, dat het kiemveld vormt en de gleuven omgeeft en voorafgaat, een lichtgrijze kleur verkrijgt, en de minder fijne en grove korrels blauwzwart gekleurd worden; maar de protoplasmalijn, die de blastomeren begrenst, zooals dat bij ei B³ is beschreven, wordt volkomen ongekleurd gelaten, zoodat zeer moeilijk is uit te maken, waar de grenzen genomen moeten wor-

den. De beide andere kleurstoffen geven niet zoo'n duidelijk overzicht van de dooierlagen, maar doen de plasmalijn scherp uitkomen.

De snijrichting wordt aangegeven door de lijn naast de figuur.

De coupes geven een dooierverdeeling te zien, welke niet volkomen gelijk is aan die van ei B³; al te zeer behoeft dit ons niet te verwonderen, daar wij toch door GROENROOS weten, dat de eieren van *Salamandra maculosa* in het achtcellige stadium een pericentrale zone II van fijn materiaal (5—10 μ) bezitten, die een centrale massa omsluit, bestaande uit korrels van 10—15 μ , en omsloten wordt door de pericentrale zone I van korrels van 15—25 μ ; de hier bedoelde zone wordt in de tijdsruimte tusschen de tweede en derde klieving gevormd, want noch in het ovariaal-ei noch in die, welke de eerste en tweede klievingen ondergaan, heeft GROENROOS haar waargenomen.

Ook in de onbevuchte eieren van *Megalobatrachus* heb ik haar niet kunnen ontdekken; over het twee- en viercellige stadium bezit ik geen gegevens, daar eieren uit dat tijdperk van de ontwikkeling zich niet bij mijn materiaal bevonden.

Bij ei B³ heb ik de verhoudingen anders gevonden als GROENROOS bij eieren van *Salamandra* van hetzelfde stadium; onder de verticale coupes door dit ei B⁴ echter zijn er sommige, nl. degene, die, zooals fig. 3 B, plaat VII toont, de segmenten VIII, I, II, III en IV treffen, waarop GROENROOS' beschrijving past; slechts is hier de pericentrale zone II en de centrale massa niet bolvormig, maar eenigszins afgeplat, waarschijnlijk doordat het geheele ei iets gedeformeerd is. De grootste afmeting der korrels van de pericentrale zone I is 35 μ ; (de kleinste is niet op te geven, aangezien de doorsneden door de onregelmatig bolvormige korrels natuurlijk alle afmetingen kunnen vertoonen); die van de korrels uit de pericentrale zone II stijgt niet boven 15 μ , terwijl zij hier dicht op elkaar liggen, in tegenstelling met de meer losse ligging in het centrum, waar haar diameter tot 20 μ bedraagt.

Op coupe 315, welke meer aan de peripherie ligt en alleen door de segmenten I, II en III gaat, is de centrale massa van de

zoo juist beschreven coupe niet meer te zien, maar zijn alleen de beide pericentrale zones zichtbaar.

Fig. 3 C (coupe 230) geeft een ander beeld; getroffen zijn segment VIII, III en IV, benevens een diepliggende punt van I. De pericentrale zone I heeft II doorbroken, en is in verbinding met het centrum, dat op de vorige figuur geheel door de pericentrale zone II omgeven werd. Deze laatste heeft een hoger niveau bereikt, en grenst bijna aan het kiemveld materiaal, hoewel zij ten allen tijde er van gescheiden blijft door de hier zeer verdunde pericentrale zone I. Bovendien heeft zij een uitsteeksel gevormd in segment IV.

Deze S-vorm van de pericentrale zone II blijft bestaan tot ongeveer coupe 200; geleidelijk zien wij in haar een zeer fijne samengepakte massa (korrels tot $12\ \mu$) optreden, zoodat hier dus de rangschikking der lagen gelijk is aan die in ei B³: periphere zone, pericentrale zone I, pericentrale II en centrale massa, hoewel de grenzen hier niet zoo scherp zijn.

Tevens is het uitsteeksel in segment IV van het overige gedeelte afgesnoerd, doordat de animale en vegetatieve deelen van de eerste gleuf in dit gedeelte van het ei in verbinding zijn, en geleidelijk overgegaan in de pericentrale zone I. Zoo is het beeld ontstaan, dat fig. 3 E (coupe 197) weergeeft.

Werpt men een blik op de fig. 3 F—I (coupe 187, 181, 169 en 157), dan ziet men, dat de punt van de pericentrale zone II, die zich naar de animale pool uitstrekt, geleidelijk terugwijkt, en dat deze zone zich vertoont in den vorm van een in de lengte gerekten band met een voortzetting in segment VII. In deze zijde van het ei, n.l. in de segmenten VI en VII, is het verschijnsel niet waarneembaar, dat, zooals in segment I, II, III en IV het geval is, de pericentrale zone II een massa van meer grofkorrelig materiaal omsluit, dan waaruit zij zelve bestaat.

Vergelijkt men deze beschrijving met die van GROENROOS van het Salamanderei uit dit stadium en met de mijne van B¹, dan blijken er, naast veel overeenkomst, ook enkele verschilpunten te bestaan; vooral het feit, dat het centrum van het ei van Mega-

lobatrachus bestaat uit het fijnste dooiermateriaal, en dat van *Salamandra* uit minder fijn, dan dat, waardoor het onmiddellijk omringd wordt, is merkwaardig, al toont ei B¹ ook eenige overeenkomst met een dergelijken bouw op een coupe, die niet door het mediaanvlak gaat, maar meer naar de peripherie ligt.

In elk geval blijkt, dat om en nabij het achtcellige stadium groote veranderingen in de rangschikking van de dooierkorrels plaats hebben, waarop ook de inwoekeringen van de pericentrale zone II wijzen; mij komt het niet onwaarschijnlijk voor, dat die, welke wij in vele figuren naar de animale pool gericht zien, te homologiseeren is met den steel van de latebra, die, volgens de SARASINS, voorkomt in het ovariaalei van *Ichthyophis glutinosus*.

Evenals op de horizontale coupes door ei B³ zien wij op deze, dat de gleuven steeds voorafgegaan worden door het fijne, scherp gecontoureerde lijntje en de strook dooiermateriaal van dezelfde samenstelling als de periphere zone.

De kernen zijn in een rustperiode en bestaan uit een los kluwen van chromatinedraden; zij liggen ieder aan den meest animalen kant van een ruimte, vrij van dooierkorrels en gevuld met een zeer dicht protoplasmanet, veel compacter dan bij ei B³ het geval was; die van segment VI is b.v. 160 μ lang, 100 μ breed, en zichtbaar op 20 coupes van 15 μ ; zij ligt niet op de grens tusschen de dooierkorrels van het kiemveld en de pericentrale zone I, maar geheel binnen het eerste, ofschoon het strookje, dat haar scheidt van de pericentrale zone I, slechts 30 μ dik is.

De kernhof van segment V doet zich voor als een 480 μ lange heldere streep, juist tusschen kiemveld en pericentrale zone I; hij wordt door 12 coupes getroffen; zijn buitengewone lengte is misschien te verklaren door een gedeelte er van te beschouwen als den weg, dien de kern van segment V heeft afgelegd, nadat de moederkern van quadrant V + VI zich gedeeld had; hiervoor pleit ook een dichte ophooping van zeer fijne korrels, die tegen dat einde van haar aan gevonden wordt, dat naar gleuf β is gekeerd.

Fig. 13, pl. VIII (coupe 169) toont, dat de gleuven δ en η juist be-

gonnen zijn in de pericentrale zone I in te dringen en geeft de dooierverdeeling aan. De randen van segment VI bestaan geheel uit het allerfijnde dooiermateriaal, dat door ijzerhaematoxyline een grijze kleur aanneemt; het binnenste van dit segment wordt gevormd door de kleine dooierkorrels van het gewone kiemveldmateriaal; de kleinste korrels ($4\ \mu$) liggen in het animale deel er van, grootere ($12\ \mu$) aan den kant, die naar de vegetatieve pool gewend is.

Op coupe 181, fig. 12, pl. VIII is, bij het kleiner worden van segment VI, dit middendeel er van verdwenen en vervangen door het grijze materiaal, dat slechts aan de benedenzijde enkele kleine zwart gekleurde korreltjes bevat. De overgang in de pericentrale zone II is zeer plotseling; de gleuven δ en γ zijn veel dieper in haar doorgedrongen dan op coupe 169 het geval is.

Op coupe 184, fig. 11, komt segment I niet meer aan de oppervlakte, doch tot coupe 197 is het nog te vervolgen, cf. coupe 195, fig. 10; daar echter is het geheel overgegaan in de pericentrale zone I.

Op coupe 201 is de klievingsgeholte aangesneden, die in de pericentrale zone II ligt. Op de afbeelding er van, fig. 9 is ook zichtbaar, dat segment VII aan alle kanten omsloten wordt door het grijze materiaal, en, behalve de kiemvelddooierkorrels, nog een streng van die van de pericentrale zone I bezit. Het meest centrale deel van segment VII is dus ook aan de benedenzijde van de overige blastomeren afgescheiden, terwijl het periphere gedeelte er van, zooals te zien is op fig. 13, met de nog onverdeelde dooiermassa in open verbinding staat op deze coupe is ook de top van segment III zichtbaar.

Fig. 8, coupe 205, toont de grooter geworden klievingsholte, welke nu aan haar bovenzijde begrensd wordt door segment VII. Segment III ziet men, bij het vervolgen der serie, in omvang toenemen, en de naburige segmenten VII en V van de oppervlakte verdringen (fig. 7, coupe 210). Op deze figuur zijn segment III en V nog duidelijk van elkaar gescheiden, maar deze grens wordt allengs flauwer, totdat (op coupe 212, fig. 6) segment V zich voordoet als dat stuk van segment III, dat de klievingsgeholte

begrenst. Of werkelijk deze blastomeren aan hun toppen nog niet gescheiden zijn, dan wel of de grens door de snijrichting en het kleuren met ijzerhaematoxyline niet waarneembaar is, durf ik niet te beslissen. De klievingsholte bestaat op deze coupe uit 3 holten, die op de volgende in elkaar overgaan. Hoe het haar omringende dooiermateriaal zoodanigen vorm aanneemt, dat het den schijn heeft, alsof cellen de holte begrenzen, kan ik niet verklaren; met sterke vergrooting wordt waargenomen, dat de wanden van deze celachtige uitwassen zich voordoen als een zeer zwak gekleurde streep, die slechts op enkele plaatsen tusschen de dooierkorrels te vervolgen is. Ofschoon deze streep — dus een grens — niet kon waargenomen worden tusschen de gedeelten a, b en c van de balk, welke zich midden in de klievingsholte bevindt, fig. 6, coupe 212, moet men toch aannemen, dat c behoort bij segment IV en a en b bij segment I, daar op de volgende coupes tusschen b en c de balk verbroken wordt. Op deze coupe 212 verschijnt voor het eerst segment I onder segment VII, dat zelf weer overdekt wordt door segment III; zeer lang blijft segment I slechts op doorsneden zichtbaar en eerst op coupe 237 bereikt het de oppervlakte.

Evenals tusschen de segmenten III en V is ook geen grens waar te nemen tusschen segment III en II; het grijze materiaal, dat aanvankelijk een gedaante heeft als op fig. 7, coupe 210, en fig. 6, coupe 212, vormt zeer geleidelijk een uitwas in het fijnkorrelige kiemveldmateriaal, en bij het vervolgen van de serie blijkt, dat dit de beginnende grens tusschen segment III en II is (cf. fig. 5, 4 en 3, coupe 217, 218 en 228).

De klievingsholte wordt het laatst gevonden op coupe 240.

Beschouwt men de fig. 3, A—J, Pl. VII, dan wordt duidelijk, dat slechts de gleuf α β de vegetatieve pool bereikt; maar het centrum van het ei is nog volkomen ongedeeld.

Medegedeeld werd reeds, dat van de overige eieren uit dit stadium slechts oppervlakteteekeningen gegeven kunnen worden, en van ei B¹ slechts die van de animale pool.

Daar op deze laatste (fig. 2, pl. V) alle acht gleuven tot aan de peripherie doorloopen en vrijwel meridianen zijn, bovendien van haar gedrag op de vegetatieve pool niets bekend is, is het onmogelijk uit te maken, welke als de oudste beschouwd moeten worden.

In een soortgelijk geval verkeerden wij met ei B², plaat V, fig. III, A en B, van welks vegetatieve pool α , β , γ en δ even ver verwijderd blijven, zoodat geen prioriteitsrechten aan een er van zijn toe te kennen. De oppervlakte der blastomeren verschilt bij dit ei meer, dan bij een der vorige, cf. $\mathcal{S} \alpha$ en $\alpha \epsilon$.

Bij de eieren B⁵ en B⁶ is de volgorde van het ontstaan der gleuven terstond duidelijk, wanneer men haar vegetatieve polen beschouwt. B⁵ is het meest ontwikkelde, aangezien zelfs een gleuf van het 3^{de} klievingsstadium (ζ) tot over den aequator is doorgedrongen (fig. VI B). Evenals in ei B² bestaat ook in dit een groote neiging der blastomeren zich om één te groepeeren, dat de andere van de animale pool schijnt te verdringen; zoo worden $\gamma \delta$ van B⁵ en X van B¹ begrensd door alle andere segmenten op één na; misschien is hetzelfde, maar minder uitgesproken, het geval met segment $\alpha \mathcal{S}$ van ei B⁴ en $\beta \zeta$ van ei B⁶ (fig. V A en VII A, plaat V).

Ten slotte moet nog op het feit gewezen worden, dat bij de eieren van dit stadium steeds een der helften van de beide eerste gleuven twee tertiaire gleuven van zich laat afgaan, en dat deze ontbreken aan een andere helft van $\alpha \beta$ of $\gamma \delta$. (γ van ei B³, fig. IV A, γ van ei B⁴, fig. V A, α van ei B⁵, fig. VI A, δ van ei B⁶, fig. VII A; B² is ook in dit opzicht van de andere eieren afwijkend, daar de derde gleuf γ door de pool gaat).

Wij kunnen onze waarnemingen aangaande dit stadium aldus samenvatten: *alle acht gleuven zijn verticaal; hoogstens gaat alleen de eerste door de vegetatieve pool; een groot centrum van het ei is nog ongedeeld, zoodat alle blastomeren nog in verband staan; de klievingsholte ligt terstond onder het kiemveld en dicht bij de animale pool; de tertiaire gleuven vertoonen zich op horizontale coupes het eerst aan de klievingsholte, eerst meer naar de animale pool toe neemt men ze waar aan de eiperipherie; elk der kernen is omringd door een zeer ruimen kernhof.*

Vierde Klievingsstadium.

Ei C (pl. V, fig. VIII) bevindt zich in het stadium, dat onmiddellijk volgt op het achtcellige, hoewel het tegelijkertijd met de zoo even beschreven eieren gefixeerd werd, dus ongeveer 40 uur nadat zij gelegd waren.

De vegetatieve pool is eenigszins beschadigd, zoodat het gedrag van de gleuven daar niet nagegaan kon worden; op de animale pool daarentegen kwamen zij zeer scherp uit, doordat eenige inkrimping van de blastomeren had plaats gevonden tengevolge van den alkohol 70%, die als fixeermiddel gebruikt was.

Tot den ouderdom der verschillende gleuven te besluiten, uit het oppervlaktebeeld van de animale pool is niet mogelijk, ofschoon men wel kan verwachten, dat α en λ , benevens eenige der latitudinale gleuven, de laatst gevormde en derhalve die van de vierde orde zullen zijn. Uit de coupes blijkt ten duidelijkste, dat wij α β als de eerste moeten beschouwen, δ γ als de tweede, η , ϑ en ε als die van de 3^{de} orde; op textfiguur 3, pag. 72, in welke de eerste en tweede gleuven gestippeld, die van het 3^{de} stadium door korte lijntjes, en die van het 4^{de} door doorlopende lijnen zijn aangegeven, is zichtbaar, welke gedeelten van de latitudinale gleuven nieuw zijn ontstaan, en welke niets anders dan stukken van de oudere zijn.

Door deze latitudinale gleuven worden op de animale pool 6 blastomeren van het overige van het ei afgescheiden; uitwendig tenminste is dat het geval; inwendig zullen de meeste er van nog met het geheel blijken samen te hangen. Van de meridiaan gerichte gleuven bereiken α en λ den aequator niet; het ligt voor de hand, dat wij deze als de jongste zullen beschouwen.

Dit ei werd in toto gekleurd in boraxkarmijn, in celloidine ingebed en gesneden in een richting, die in plaats van evenwijdig loopende aan den aequator er een hoek van ongeveer 20° mede maakt, wjl tengevolge van de deformatie door het fixeeren in alkohol, een juiste orienteering niet mogelijk was. Bovendien is de kleur ring zeer flauw uitgevallen, zoodat het onmogelijk is de dooier-

lagen op dezelfde wijze weer te geven, als dat geschiedde bij de reeds beschreven eieren.

Hoewel door de eenigszins scheeve snijrichting de punten, welke op de peripherie van een willekeurige coupe liggen, niet alle even ver verwijderd zijn van de beide polen, maar die van de eene zijde dichter bij de animale, en die van de andere meer bij de vegetatieve, schijnt het mij toch het beste te bespreken wat enkele bepaalde coupes te zien geven; op deze wijze zal het het gemakkelijkst zijn een inzicht te geven in den samenhang der blastomeren.

Fig. 4 A, plaat VII, coupe 194, toont terstond welke segmenten getroffen zijn; zij zijn nog niet van elkaar gescheiden, maar staan door het ongedeelde centrum van het ei in open verbinding. Uit de asymetrische ligging van de gleuven ten opzichte van δ en γ , (terwijl er wel symmetrie bestaat ten opzichte van α en β) en uit het feit, dat η nog niet zichtbaar is, blijkt, dat punt α het dichtst bij de animale pool gelegen en β het verst daarvan verwijderd is.

Op fig. 4 B, plaat VII, coupe 221, is de klievingsholte zichtbaar; aan de peripherie zijn de gleuven η en κ verschenen; de laatste is ook zichtbaar aan de klievingsholte, zoodat segment $\zeta\kappa$ volkomen van de andere afgescheiden zou zijn, indien niet een opening in κ was blijven bestaan; in deze opening bevindt zich een lichtgekleurde protoplasmastring, welke de beide tangential geplaatste kernhoven verbindt, die de kernen van segment $\kappa\zeta$ en $\kappa\gamma$ omringen. Wij kunnen hieruit de gevolgtrekking maken, dat de deeling van de kern, die oorspronkelijk eigen was aan segment $\zeta\gamma$, juist is geëindigd; tengevolge van die kerndeeling is echter niet een latitudinale gleuf ontstaan, maar een meridionale van de 4^{de} orde, en derhalve is noch segment III noch segment IV van het vroegere blastomeer $\zeta\gamma$ afgesnoerd, zooals men misschien uit het oppervlaktebeeld zou afleiden.

Blastomeer $\alpha\zeta$ is op deze coupe door de gleuven α en ζ , en door de klievingsholte geheel van de andere gescheiden; de in de holte uitstekende punt van dit segment en de uitwas aan de tegenovergestelde zijde van de klievingsholte herinneren echter nog

aan de verbinding, die tusschen segment $\alpha \zeta$ en het ongedeelde eicentrum op de vorige coupes heeft bestaan, en die door het optreden van de klievingsholte verbroken werd. In de laatstgenoemde is waarneembaar het onderste, d. w. z. het dichtst bij de vegetatieve pool zich bevindende, gedeelte van segment III; daar de kernhof van $\alpha \zeta$ radiaal geplaatst is, en die van segment III zich bij die zijde van het blastomeer III bevindt, welke grenst aan blastomeer $\alpha \zeta$, is het zeer waarschijnlijk, dat tengevolge van de 4^{de} kerndeeling segment III van segment $\alpha \zeta$ is afgesnoerd, hoewel er tusschen deze beide segmenten geen verbinding meer bestaat, zooals werd waargenomen tusschen $\zeta \kappa$ en $\kappa \gamma$. Deze waarschijnlijkheid, die reeds zeer groot was door de richting der kernhoven, wordt nog grooter, omdat bij het vervolgen der serie blijkt, dat segment III nergens eenig verband of neiging tot verbinding met een der andere blastomeren toont, en derhalve een volkomen omgrensde cel is.

De gleuf, ontstaan door de 4^{de} kerndeeling, heeft dus in het oorspronkelijke octant $\alpha \zeta$ een latitudinale richting, terwijl de gleuf van de 4^{de} orde in octant $\zeta \gamma$ meridionaal gericht was.

Het schijnt mij overbodig aangaande de segmenten I, II, IV, V en VI in extenso te bespreken, van welk segment zij afgesnoerd werden, hetzij dat daaromtrent zekerheid bestaat door het aanwezig zijn van een gedeeltelijke verbinding (als tusschen $\zeta \kappa$ en $\kappa \gamma$), hetzij dat de waarschijnlijkheid er van zeer groot is (als bij $\alpha \zeta$ en III).

De volgende mededeelingen kunnen dus voldoende geacht worden.

De segmenten II en $\alpha \varepsilon$ staan door een vrij nauwe opening nog in communicatie; de gleuf van de 4^{de} orde heeft in octant $\alpha \varepsilon$, dus zooals in octant $\alpha \zeta$, een latitudinaal verloop genomen.

Hetzelfde is het geval in het oorspronkelijke octant $\gamma \eta$, daar segment IV alleen in verbinding is met segment $\gamma \eta$. De opening, waardoor die verbinding geschiedt, stond op het punt gesloten te worden, toen het ei gefixeerd werd, want zij is nog slechts zichtbaar op twee coupes.

Segment $\varepsilon \delta$ en segment I communiceeren door een opening, die getroffen wordt door 6 coupes; ook hier is de gleuf dus

een latitudinale, hoewel zij eenige neiging vertoont een verticale richting te nemen, daar haar snijpunt met gleuf δ veel verder van de animale pool verwijderd is dan dat met gleuf ϵ .

Segment V is op 5 coupes met segment $\delta \vartheta$ verbonden, maar overigens aan alle zijden volkomen begrensd.

De segmenten VI en $\beta \gamma$ staan in open communicatie, hoewel zij uitwendig door een latitudinale gleuf gescheiden worden.

Het nog niet besproken octant $\vartheta \beta$ blijkt zich te gedragen zooals octant $\zeta \gamma$, dat wil zeggen: in plaats van een latitudinaal verloop van de er bij behorende gleuf van de 4^{de} orde, vinden wij een meridionaal, zoodat de segmenten $\vartheta \lambda$ en $\lambda \beta$ slechts in hun centrale gedeelten gescheiden zijn.

Deze beide octanten $\gamma \zeta$ en $\beta \vartheta$, waarin de gleuf van de 4^{de} orde een andere richting heeft dan in de overige octanten, zijn, zooals een blik op fig. VIII, pl. V leert, verreweg de grootste van het achttal; neemt men dit in aanmerking, dan wordt bij dit ei, dunkt me, door het gedrag der gleuven van de 4^{de} orde een bevestiging gevonden van den regel van HERTWIG, dat de kerndeelingsfiguur zich instelt in de richting van de grootste protoplasma-ophooping; dus tangenciaal gericht moet zij geweest zijn in de octanten $\gamma \zeta$ en $\beta \vartheta$, radiaal in de overige.

Het kenmerkende van dit ei uit het vierde klievingsstadium is: *van de acht gleuven van de vierde orde zijn zes latitudinaal en twee meridionaal, zoodat op de animale pool aan de oppervlakte zes micromeren gevormd worden; van deze is alleen micromeer III geheel afgescheiden van de andere blastomeren, die alle nog in open verbinding met elkander staan.*

Stadium van 64 uur.

In mijn materiaal bevindt zich thans een groote gaping; het ei D, dat op den morgen van 22 Sept., dus ongeveer 64 uur na het leggen in formol 4% gefixeerd werd, en afgebeeld wordt op de fig. IX A—E van plaat V, is het minst ver ontwikkelde van de volgende eieren, maar vertoont toch een veel meer

gecompliceerd beeld dan een ei zou doen, dat verkeert in een stadium, volgend op dat van ei C. Fig. A stelt de animale pool voor, B de vegetatieve, E en D twee zijkanten, terwijl in C de animale pool eenigszins naar den beschouwer gekeerd is.

De animale pool wordt ingenomen door een veertigtal, aan de oppervlakte geheel begrensde, blastomeren van zeer verschillende grootte; over het algemeen zijn degene, die in het centrum van fig. IX A liggen de kleinste, en de meer periphere de grootste, hoewel vele uitzonderingen voorkomen.

De eiomtrek wordt op de figuur bereikt door 14 verticale gleuven, maar slechts 5 (misschien 6; het verloop van een gleuf, afgaande van ϵ , fig. IX B, kon niet naar de animale eihelft vervolgd worden) bereiken de vegetatieve pool, waar zij op zoodanige wijze samentreffen, dat twee geheel begrensde blastomeren gevormd worden, een vrij groot en een klein, fig. IX B. De overige zijn nog niet voldoende ver voortgedrongen om zichtbaar te zijn op de vegetatieve eihelft (η en ϑ b.v. op fig. IX D); α vereenigt zich even onder den aequator met β (fig. IX E) en herinnert aldus aan het gedrag van sommige der verticale gleuven van het ei van *Amia*.

Op één plaats (in fig. IX D) nam ik waar, dat een verticale gleuf zich als het ware in tweeën splitst; in dit geval, dat ook zichtbaar is op fig. IX C, ligt het punt van afgang veel lager dan het gebied van de micromeren reikt; overigens staan de verticale gleuven slechts door latitudinale met elkaar in verbinding.

Ik ben niet in staat op coupes na te gaan, hoe oud de verschillende gleuven zijn; door haar verloop op de vegetatieve pool bestaat echter misschien eenige mogelijkheid, dat α β en γ δ de eerste en tweede voorstellen, hoewel het zeer verschillende aantal van verticale gleuven, dat zich telkens tusschen twee opeenvolgende der punten α , β , γ en δ bevindt, niet voor deze opvatting pleit.

Aan dit ei hebben wij derhalve waargenomen *vele micromeren, en vijf gleuven, die door de vegetatieve pool gaan.*

Stadiën van 88 uur.

De nu volgende aanwezige eieren E, pl. V fig. X A en B, en F, pl. VI, fig. XI A, B en C sluiten niet terstond aan bij het zoo juist besproken ei. Zij werden den 23^{sten} September, ongeveer 88 uur na het leggen in pikrinezwavelzuur van KLEINENBERG gefixeerd.

De animale polen bestaan uit een groot aantal kleine blastomeren, waarvan de grenzen bij ei F niet meer volkomen natuurgetrouw met de camera bij een vergrooting van ZEISS obj. a_0 , oc. 2 na te teekenen waren. De celgrenzen onder een lijn, die de punten *a* en *b* op fig. XI A en B verbindt, zijn echter alle met het teekenapparaat van ABBE opgenomen.

Uit de afbeeldingen (fig. XI B stelt ei F in eenigszins scheeven stand voor) blijkt, dat de grootte der micromeren, naar den aequator toe, toeneemt. De vrij scherpe grens tusschen micro- en macromeren ligt nog op de animale eihelft, hoewel ook op de vegetatieve zijde blastomeren waargenomen worden, die even groot als of kleiner zelfs zijn dan sommige micromeren van de animale pool (pl. V, fig. X B).

Op de zijden van deze beide eieren bevinden zich hoofdzakelijk verticale gleuven, waarvan sommige elkaar onder meer of minder scherpe hoeken snijden, of, in weinige gevallen, door latitudinale gleuven verbonden zijn.

Op de vegetatieve polen is het aantal dezer latitudinale gleuven betrekkelijk groot, zoodat daar ettelijke rondom begrensde blastomeren gevormd worden, 5 bij ei E en ongeveer 15 bij ei F; het laatste ei is dus waarschijnlijk het meest ontwikkelde van de twee.

Ei E werd in toto gekleurd met boraxkarmijn en volgens de celloidinmethode in verticale coupes van $15\ \mu$ gesneden. De serie, in welke ei F gesneden werd, na kleuring met zuren haemalaun volgens MAYER, door middel van de celloidinmethode, geeft echter een beter overzicht. Ik zal dit laatste ei derhalve nader bespreken en enkele coupes ervan afbeelden, hoewel dit ei niet meer

zijn bolronden vorm behouden heeft en een klein weinigje meer ontwikkeld is dan ei E.

Bij beschouwing van fig. 4, pl. X, die een ongeveer mediane coupe voorstelt, valt het eerste op, dat — niettegenstaande het groote aantal mikromeren en enkele macromeren, welke voornamelijk aan de rechter- en linkerzijde van de figuur, maar zelfs ook aan den onderkant te zien zijn — er nog een ongedeeld centrum bestaat; m. a. w.: alle blastomeren zijn nog niet volkomen van elkaar gescheiden, maar ettelijke macromeren staan door middel van dat centrum nog met elkaar in verband. Een vrij groot deel van de vegetatieve eihelft wordt door deze ongedeelde massa ingenomen, zoodat op ongeveer 300 van de 400 coupes, in welke het ei gesneden is, samenhangende macromeren waarneembaar zijn.

Tengevolge van de talrijke gleuven, die begeleid en voorafgegaan worden door fijnkorrelig materiaal, is de dooierverdeeling niet meer zoo betrekkelijk regelmatig, als wij dat gezien hebben bij de eieren B³ en B⁴ van het 3^{de} klievingsstadium.

Een centrum, bestaande uit even fijn materiaal als het oorspronkelijke kiemveld in het onbevruichte ei bezat en als nu de meeste der micromeren vormt, wordt niet meer waargenomen; maar de centrale massa van deze eieren is opgebouwd uit dergelijke korrels, als in de eieren B³ en B⁴ van het achtcellige stadium de pericentrale zone II samenstellen. Het komt mij evenwel toch wenschelijk voor, bij dit ei de namen »pericentrale zone'' en »centrale massa'' te gebruiken, zonder uit het oog te verliezen, dat deze centrale massa niet gelijk te stellen is aan die van de eieren B³ en B⁴.

Nevens deze twee lagen komt de periphere zone voor, die ongeveer dezelfde samenstelling heeft als bij ei A, hoewel zij hier nog meer onmerkbaar in de pericentrale zone overgaat.

Verreweg het grootste gedeelte van de pericentrale zone wordt in de vegetatieve eihelft gevonden; haar grootste dikte valt samen met de hoofdas van het ei, die de animale pool met de vegetatieve verbindt, en waarop dus het meest centrale deel van deze zone

ligt. De afstand van dit deel tot de vegetatieve pool bedraagt ongeveer 1200 μ . Een denkbeeldige lijn, door dit punt loodrecht op de hoofdas getrokken, stelt tennaastenbij de bovengrens van deze zone voor.

Haar bouw is eenigszins anders dan die, welken wij gevonden hebben bij de jongere eieren. Het aantal der groote korrels (35 μ) is geringer geworden, zoodat zij meer tusschen het fijnere materiaal verspreid liggen dan vroeger het geval was.

Op de zijkanten van het ei is deze pericentrale zone zeer smal, zelfs tengevolge van de gleuven op vele plaatsen door fijner materiaal vervangen, maar altijd blijft toch zichtbaar, hoe haar oorspronkelijke gedaante is geweest. In de animale eihelft zijn nog gedeelten van haar aanwezig in die micromeren, welke het meest centraal liggen; sommige van deze laatste bestaan zelfs geheel uit dit grove materiaal en bezitten niets van de fijne korrels, die de overgroote meerderheid der micromeren samenstellen.

De centrale massa bestaat, evenals de pericentrale zone II van de eieren van het 3^{de} klievingsstadium, uit korrels van ten hoogste 15 μ , tusschen welke zich geen fijner materiaal bevindt. Haar benedengrens is hierboven reeds aangegeven; naar boven toe reikt zij tot aan de klievingsholte, die uit talrijke, meer of minder groote, in open verbinding staande ruimten tusschen de micromeren bestaat.

Het materiaal, dat de micromeren vormt, is, met de bovengenoemde uitzondering, zeer fijn en bestaat uit korrels van ten hoogste 10—12 μ . De grens tusschen de micro- en macromeren is, evenals op het oppervlaktebeeld gevonden wordt, op de afgebeelde, ongeveer mediane coupe, vrij scherp; zij liggen evenwel niet onmiddellijk tegen elkaar aan, maar worden gescheiden door een overgangsgebied, bestaande uit cellen van een grootte, die het midden houdt tusschen die van de micro- en de macromeren. De lengte der diameters van de meeste micromeren ligt tusschen 100 en 200 μ , die van de cellen uit het overgangsgebied bedraagt op zijn hoogst 800 μ , terwijl sommige der macromeren bij de vegetatieve pool aan de oppervlakte komen en, doordat

de centrale massa nog niet verdeeld is, aan hun animale zijde begrensd worden door de klievingsholte. De afmeting in deze richting stijgt bij die enkele blastomeren, waarbij dit het geval is, tot 2000 μ , maar over het algemeen is de grootte geringer: zij daalt soms tot 1000 μ .

Ik wees reeds op de losse ligging der micromeren ten opzichte van elkaar, waardoor de klievingsholte bestaat uit een doolhof van gangen en holten, welke in wijde verbinding zijn of communiceeren door nauwe spleten. Slechts op een twintigtal coupes vinden wij een grootere ruimte, over haar grootste lengte en diepte ongeveer 800 μ metende; zij ligt zeer asymmetrisch ten opzichte van de hoofdas, zoodat een harer wanden de dikte heeft van enkele (2 of 3) blastomeren en de andere ongeveer 10—12 cellen dik is. Haar dak wordt soms gevormd door slechts één micromeer. De kleinste micromeren vormen de animale pool; langs den eiomtrek naar de vegetatieve gaande, ziet men hun grootte zeer langzaam toenemen, totdat men plotseling stuit op een veel grooter, een overgangsblastomeer; na 1—4 dezer cellen bereikt men nog boven den aequator, het gebied der macromeren. In het inwendige van het ei heerscht natuurlijk dezelfde toestand, met dit verschil, dat micromeren en overgangsblastomeren onderling en van elkaar op vele plaatsen gescheiden worden door deelen van de klievingsholte. Dikwijls is duidelijk zichtbaar, dat de toppen der macromeren, welke tot aan de klievingsholte reiken en den bodem er van vormen, op het punt staan afgesnoerd te worden; is dit geschied, dan vormen zij de overgangsblastomeren, die op den bodem der klievingsholte liggen, en door volgende deelingen op de grootte der micromeren gebracht worden.

Epitheelachtig zijn slechts sommige aaneensluitende oppervlakkig liggende micromeren gerangschikt, maar een duidelijk, samenhangend oppervlakte-epitheel is in dit stadium nog niet aanwezig. De kernen der blastomeren zijn meer of minder gemakkelijk waarneembaar, naar gelang zij zich bevinden in micro- of in macromeren.

In de eerste wordt haar plaats duidelijk gekenmerkt door een

zeer grooten, volkomen dooiervrijen kernhof, zooals wij dien hebben leeren kennen bij ei B³ en B⁴; nam echter de kern daar ongeveer de hoogste plaats van deze met plasma gevulde holte in, hier bevindt zij zich altijd in het centrum van den kernhof.

In een micromeer, waarvan een zijde aan de eioppervlakte ligt, en welks lengte 190 μ en welks breedte 130 μ bedraagt, is de kernhof ovaalvormig met assen van 77 μ en 58 μ , terwijl de kern, die in een rustperiode verkeert, een diameter heeft van 23 μ . Een ander, dat niet door de oppervlakte begrensd wordt, en 190 μ lang en breed is, bezit ook een kernhof van 77 μ middellijn en een rustende kern van 33 μ diameter.

In de overgangsblastomeren is de kernhof relatief, en dikwijls ook absoluut, veel kleiner. In een dergelijke cel, die 350 μ lang en 310 μ breed is, meet de kernhof ook wel 77 μ in diameter, doch de kern erin heeft een middellijn van 45 μ ; een ander, 640 μ lang bij 320 μ breed, heeft een kernhof van 110 μ lang, 77 μ breed, en een kern van 57 μ diameter; in een 3^{de} van 800 μ diameter, meet de kernhof 57 μ en de er in liggende kern 24 μ .

Het laatstgenoemde geval is reeds een overgang naar den toestand der macromeren, waarvan de kernen moeilijk te vinden zijn, doordat zij zonder noemenswaardigen kernhof tusschen de dooierkorrels liggen. Zoo is b.v. van een er van de kernhof 80 μ lang en 40 μ breed, terwijl zijn kern 70 bij 25 μ meet.

Het komt mij voor, dat de kernhoven der micromeren veel dichter met protoplasma gevuld zijn dan die van de macromeren, terwijl de overgangsblastomeren ook in dit opzicht een tusschenstadium vormen.

Een groot aantal der kernen is in een of ander deelingsstadium; vooral bij de micromeren is dit het geval. Van de overige vertoonেন slechts enkele het normale beeld van een rustende Urodelenkern, d.w.z. een regelmatig gevormd blaasje, gevuld met karyohyaloplasma en talrijke donkergekleurde chromatinekorrels; verreweg het meerendeel behoort tot de zg. knolvormige en gelapte kernen, die reeds bij zoovele Vertebraten gevonden zijn. Vanaf den gewonen kernvorm, die, zooals werd opgemerkt, in dit

ei zelden gezien wordt, tot 5 à 8 bijna geheel geïsoleerd liggende blaasjes, die ieder gebouwd zijn als een kleine kern, komen alle denkbare overgangen voor. De grootte der blaasjes van één kern kan gelijk zijn, maar dikwijls bestaat er een reusachtig verschil, zoodat de kleine als knoppen op de groote gehecht zitten. Is hun grootte ongeveer gelijk, dan wordt men herinnerd aan het beeld, dat een dooierarm ei geeft tijdens de eerste en tweede klieving, en, naarmate de blaasjes meer of minder gescheiden zijn, zoowel aan het einde als aan het begin van het klievingsproces.

In alle drie soorten van blastomeren van dit ei F, die ik meende te moeten onderscheiden, zijn deze kernvormen waargenomen. Mij ontbreekt de tijd nader hier op in te gaan; bovendien zijn deze coupes niet zóó behandeld, dat zij geschikt zijn voor een dusdanig cytologisch onderzoek. Toch meen ik het volgende niet te mogen verzwijgen. In een regelmatig gevormd, zeshoekig overgangsblastomeer, waarvan de evenwijdige zijden $450 - 480 \mu$ van elkander zijn verwijderd, en dat ten deele gevuld is met grove en ten deele met fijne dooierkorrels, bevinden zich twee kernhoven, gescheiden door een band van dooierkorrels ter dikte van 55μ ; de kernhoven zelve zijn ongeveer rond en hebben een middellijn van 40μ . Op de volgende coupe is een hunner niet meer in zijn volle afmeting getroffen, daar de snijrichting ten opzichte van deze figuur eenigszins scheef gericht is; maar men kan er op waarnemen, dat de korrels van den band zeer los gerangschikt zijn, en de kernhoven door de ruimten tusschen de korrels nog met elkaar in verbinding staan. Hieruit mogen wij dus afleiden, dat de kerndeeling kort te voren heeft plaats gehad, hoewel van een celdeeling nog geen spoor zichtbaar is. Wat mij opmerkelijk schijnt, is, dat in de kernhoven niet één kern van normale grootte wordt gevonden, maar enkele losse groepen van kleine kerntjes, waaraan HÄCKER (1902) den naam »idiomeren» heeft gegeven, die ook door mij in het vervolg gebruikt zal worden. Op de eerste coupe bevindt zich in den eenen kernhof een rechte strook van 34μ lengte, bestaande uit 4—5 idiomeren van ongeveer 8μ middellijn en aan één zijde er van nog 3 kleinere van 3 en 4μ ;

op de tweede coupe bestaat er in zoo verre verschil, als de doorsnede van een der beide uiterste blaasjes van de rij op dezelfde grootte is gebleven, en het andere op deze doorsnede 3 blaasvormige uitzakkingen blijkt te bezitten, terwijl de tusschenliggende aanmerkelijk kleiner zijn geworden. Op de 3^{de} en laatste coupe, waarop de idiomeren waarneembaar zijn, is de rij niet meer continu, maar in het midden doorbroken; aan het eene eind ligt een groep van ongeveer 5 blaasjes van 2—6 μ in middellijn, aan het andere bevinden zich 3 dezer kleine kernen, waarvan het uiterste het grootste (15 μ) en het binnenste het kleinste (8 μ) is. Het chromatine van al deze kerntjes doet zich niet voor in de gedaante van talrijke fijne, donkergekleurde, stipjes en korreltjes, maar in die van een kluwen van chromatinedraden, die meestal wandstandig gelegen schijnen te zijn.

In meer blastomeren, waarvan de kernen zich klaarblijkelijk aan het einde van de deeling bevinden, heb ik hetzelfde waargenomen. Daardoor ben ik geneigd met HÄCKER en anderen aan te nemen, dat de chromosomen van de dochterkernen zich niet terstond in één kern oplossen, maar eerst (ieder afzonderlijk of een zeker aantal te samen?) de beschreven kleine kernen vormen; en dat deze laatste in den loop der ontwikkeling tot één versmelten, waardoor het bekende beeld van den rustenden kern ontstaat; er werd reeds medegedeeld, dat alle overgangen tusschen talrijke, bijna vrije kerntjes en één groote normale waargenomen worden.

Bij een later te beschrijven ei kom ik hierop terug.

Aangaande de plaats der kernen in de macromeren, waar, zooals vermeld werd, gewoonlijk geen kernhof aanwezig is, zij nog medegedeeld, dat zij zich bevindt ongeveer in het midden van het betreffende macromeer, en derhalve niet in de meest animalaal gelegen deelen er van; daar eveneens bij dit ei aan de vegetatieve pool reeds geheel begrensde blastomeren voorkomen, liet zich het laatste trouwens niet verwachten. In de ongedeelde centrale massa werden geen kernen ontdekt.

Of werkelijk iedere, aan alle zijde begrensde, dooiermassa inderdaad een blastomeer is, d. w. z. een kern bevat, heb ik na-

tuurlijk niet voor ieder geval afzonderlijk kunnen nagaan; die talrijke echter, die ik op dit punt onderzocht, waren alle kernhoudend.

Boven werd reeds medegedeeld, dat ei E waarschijnlijk iets minder ontwikkeld was, dan het zoo juist beschrevene, maar dat ik om de minder goede serie, waarin het gesneden werd, het beter oordeelde de detailbeschrijving aan ei F te ontleenen. 't Is evenwel noodzakelijk met enkele woorden nog eenige bijzonderheden van ei E te bespreken.

Door de geringere ontwikkeling er van heeft het minder blastomeren dan ei F, maar zijn zij hier veel grooter dan daar waargenomen werd; ook ligt de grens tusschen micromeren en overgangsblastomeren, en die tusschen de laatste en de macromeren meer naar de animale pool dan bij het zooeven beschreven ei.

Bijna alle kernen zijn in een deelingsphase of vertoonen den bekenden knolvormigen en gelapten vorm. Een belangrijk verschil met ei F vinden wij in de klievingsholte; in plaats van een doolhof van holten is hier een vrij groote ruimte aanwezig, die slechts aan haar zijkanten in een labyrinth van nauwe spleten en gangen overgaat. Er zijn op de coupes 4 wanden te onderscheiden: een bodem, gevormd door de macromeren of de toppen er van, op het punt staande afgesnoerd te worden; 2 wanden, waarvan de onderste helft bestaat uit overgangsblastomeren en de bovenste uit micromeren; een dak, eveneens uit micromeren samengesteld. Op enkele plaatsen is dit dak slechts één micro meer dik, gewoonlijk echter 2—4. Op den bodem van de holte liggen ettelijke groote overgangsblastomeren, pas afgesnoerd van de macromeren. De afstand van bodem tot dak bedraagt op sommige coupes bijna 1 m.M., en die tusschen de wanden op dezelfde doorsnede bijna 2 m.M.

Wanneer deze, hier voorkomende, ruime klievingsholte, niet een toevallige abnormaliteit is, en ook de toestand, die bij ei F gevonden werd, als normaal beschouwd moet worden, dan wordt

bij *Megalobatrachus* de oorspronkelijke klievingsholte door de deeling der micromeren en der overgangsblastomeren, en de sponsachtige rangschikking van die deelstukken gereduceerd tot het bij ei F besproken netwerk van communiceerende gangen. Later zullen wij weer één groote ruimte vinden.

De centrale, ongedeelde massa is grooter dan bij ei F, zoodat nog vele der macromeren samenhangen.

De dooierkorrels van ei E hebben, zooals bij sterke vergrooting blijkt, niet haar gewone, scherp gecontoureerde uiterlijk; vele er van zijn tot onregelmatige klompen versmolten, waardoor vermoedens oprijzen, dat dit ei E bij het fixeeren zich niet in normalen, levenden toestand bevond, maar eenigszins gedegenerceerd was. Is het laatste juist, dan moeten wij misschien ook de groote klievingsholte op rekening van die degeneratie stellen, daar zij abnormaal vergroot kan zijn door vochten, die zich in haar verzameld hebben. Bij degenerceerende onbevuchte eieren werd een dergelijk verschijnsel waargenomen; zooals ik boven schreef, heft zich het kiemveld in dat geval op van het overige ei, waardoor het chorion duidelijk zichtbaar wordt.

Op de coupes door ei E vinden wij inderdaad groote hoeveelheden van een vrij sterk gekleurd neerslag in de klievingsholte en eveneens in een ronde blaas, van 200 μ middellijn, die tusschen de dooierkorrels van de vegetatieve pool ligt, geheel dooiervrij is en omsloten wordt door een donker gekleurde membraan; of wij deze blaas moeten beschouwen als een vreemd, binnengedrongen lichaam, of als een degeneratieproduct, waarom het protoplasma zich heeft afgezet, wil ik niet beslissen.

Aan den anderen kant mag niet verzwegen worden, dat alle blastomeren normaal begrensd en gevormd zijn, zoodat een coupe bij vergrooting met ZEISS, obj. A, oc. 2 niets bijzonders te zien geeft.

De waarnemingen, aangaande ei F, kunnen aldus samengevat worden: *er zijn micromeren, overgangsblastomeren, en macromeren;*

de klievingsholte bestaat uit een doolhof van gangen en holten, dat slechts op één plaats (asymmetrisch ten opzichte van de ei-as gelegen) tot een grootere ruimte verwijld wordt; vele macromeren hangen onderling samen, tengevolge waarvan nog een ongedeelde centrale massa gezien wordt; een groot deel der kernen, zoowel der macromeren, is knolvormig en gelapt.

Stadium van 112 uur.

De klieving van het thans volgende ei, G, pl. VI, fig. XII, dat den 24^{sten} September, ongeveer 112 uur na het leggen in pikrinezwavelzuur van KLEINENBERG gefixeerd werd, is duidelijk verder ontwikkeld dan van de eieren E en F. Op de animale pool zijn de micromeren zoo klein, dat zij met de camera niet op te nemen waren, en in de fig. XII op plaat VI niet volkomen natuurgetrouw zijn weergegeven; beneden een denkbeeldige lijn, de punten a en b vereenigend, zijn alle gleuven echter geteekend met behulp van ABBE's teekenapparaat.

De grens tusschen micromeren en overgangsblastomeren ligt halverwege tusschen de animale pool en den aequator; die tusschen de laatste en de macromeren ongeveer op den evenaar, maar ook komen hier, zooals bij vorige stadia werd opgemerkt, blastomeren voor, die volgens hun plaats op de vegetatieve eihelft macromeren zijn, maar in grootte de overgangsblastomeren, zelfs enkele micromeren, niet overtreffen. Het meerendeel der gleuven heeft een min of meer verticale richting; de latitudinale zijn betrekkelijk zeldzaam.

Naast de area van intensieve celdeeling op de animale pool heb ik uitwendig niet een tweede dergelijke area op een der meridianen kunnen vinden, die, zooals EYLESHEIMER onlangs beschreef, bij Necturus de plaats bepaalt, waar later de blastoporus zal ontstaan. Bij de bespreking van de coupes zal nader op dit punt teruggekomen worden.

Van de onderzijde van dit ei ben ik niet in staat een afbeelding te geven.

Dit ei G werd in toto gekleurd met boraxkarmijn en in verticale coupes van $20\ \mu$ gesneden.

Door de meerdere ontwikkeling is de grootte van alle blastomeren afgenomen, maar hun aantal belangrijk gestegen. De grenzen tusschen de drie soorten er van, die ik bij de vorige eieren heb onderscheiden, en die ook hier voorkomen, zijn wederom vrij scherp.

Op coupes, die nog ver verwijderd zijn van het mediaanvlak verschijnt pl. IX, fig. II de klievingsholte op twee plaatsen, welke beide ruimten gescheiden worden door een breede strook, deels bestaande uit micromeren, deels uit overgangsblastomeren. Elk dezer holten — laat ik ze rechter en linker noemen, daarmee trouwens alleen haar plaats op de coupes bepalend — heeft derhalve haar eigen wanden, maar die van de eene zijn niet uit cellen van dezelfde soort opgebouwd als die van de andere. Zoo bestaat het dak van de linker uit 2—5 lagen van micromeren ($100\ \mu$ ongeveer); de wanden zijn gevormd voor een gedeelte door micromeren en voor een deel door overgangsblastomeren ($140\text{—}250\ \mu$), welke laatste ook haar bodem samenstellen. Het dak van de rechterholte daarentegen bevat alleen in zijn linkerhelft eenige micromeren, maar bestaat overigens uit overgangsblastomeren, die eenlagig gerangschikt zijn; de rechterwand bestaat uit 2—3 lagen van overgangsblastomeren, die ook haar bodem vormen. De rangschikking van deze cellen is veel meer sponsachtig dan die van de micromeren der linkerholte.

De serie vervolgende, zien wij de strook, die beide holten scheidt, op één plaats dunner worden en ten slotte doorbreken; dan ziet men de onverdeelde klievingsgeholte, waarvan de bodem en de wanden uit betrekkelijk losliggende overgangsblastomeren bestaan, tusschen welke gleuven en spleten gevonden worden, die onderling en met de groote holte communiceeren: het dak vormen 3—5 lagen van dichtaaneengesloten 4-, 5-, of 6-hoekige micromeren; op de plaats, waarop de vorige coupes de strook zich met het dak verbond, zijn de micromeren groter van afmeting, zoodat daar een verdikking gevonden wordt pl. IX, fig. III en pl. X,

fig. 7; rechts van deze laatste wordt het dak weer veel dunner; het is daar gevormd door één of twee lagen van overgangsblastomeren: dit gedeelte heeft derhalve denzelfden bouw als op de vorige coupes het dak van de rechterholte had.

In de volgende coupes breidt deze verdikking zich naar rechts uit, waardoor het dak van de klievingsholte in de rechterhelft $400\ \mu$ dik is, en bestaat uit 3—5 lagen van overgangsblastomeren; op één plaats daalt de dikte plotseling tot $160\ \mu$, doordat de 3—5 lagen hier samengesteld worden door micromeren; over het verdere deel naar links blijft deze dikte gelijk (pl. X, fig. 7).

Deze gelijkmatig verdikte rechterwand van de klievingsholte is slechts zichtbaar op 7 coupes; daarna is hij weer verdwenen, en zien wij weer het beeld, dat wij ook te voren gezien hebben, nl. een verdikte plaats van het dak, uitstekende in de klievingsholte. Zeer spoedig verbindt deze verdikking zich weer met den bodem door middel van een strook overgangscellen, zoodat wij thans weer onderscheid kunnen maken tusschen een linker- en een rechterholte. De laatste is veel kleiner dan de eerste. Daarna verdwijnt de scheiwand weer en zijn beide holten wederom tot één versmolten. Hetzelfde verschijnsel herhaalt zich nog eens, d. w. z. nog éénmaal verbinden zich de verdikking van het dak en de bodem, maar daarna verdwijnt het eerst de rechterholte, en vervolgens de linker, voor goed. Opmerkelijk is, dat, wanneer op een coupe de holten geheel of bijna gescheiden zijn, het dak van de rechter slechts één of twee overgangsblastomeren dik is, en wanneer beide in open verbinding gezien worden, de dikte 4—6 lagen van overgangsblastomeren bedraagt.

De bodem van de klievingsholte wordt gevormd door de overgangsblastomeren; hij is niet vlak, maar oneffen door de talrijke cellen, die juist afgesnoerd zijn, of op het punt staan vrij te worden.

De afmetingen der macromeren bedragen van $800\text{—}1000\ \mu$, misschien meer; doordat dit ei niet goed is doorgekleurd, zijn slechts de grenzen er van aan de oppervlakte zichtbaar. Bovendien is het mij daardoor onmogelijk uit te maken, of al dan niet een

ongedeelde centrale massa voorkomt. Indien zij nog bestaat, dan is zij in elk geval zeer klein, want de grenzen der overgangsblastomeren zijn op sommige coupes dicht bij het centrum zichtbaar.

De kernen — bijna alle hebben den knolvormigen en gelapten vorm — missen haar kernhof; zij worden onmiddellijk door de dooierkorrels omringd. Ettelijke bevinden zich in een deelingsphase.

Dit ei heeft derhalve de volgende kenmerken: *dak en bodem van de klievingsholte worden op vele coupes door overgangsblastomeren verbonden; het grootste deel van het dak bestaat uit 3—5 lagen van micromeren, een kleiner gedeelte uit 1—3 lagen van losgerangschikte overgangsblastomeren; dit laatste deel is dikwijls even dik als de verdikte plaats in het dak; vermoedelijk komt geen ongedeelde centrale massa voor.*

Ook op de coupes heb ik dus niet een tweede area van intensieve celvermeerdering kunnen waarnemen, nl. een groep van micromeren, door een gebied van overgangsblastomeren gescheiden van de groep micromeren, die aan de animale pool ligt. Wel vonden wij een zeer verdikte plaats in het dak van de klievingsholte, 'maar zij bestaat uit overgangsblastomeren, welke naar de vegetatieve pool toe geleidelijk overgaan in blastomeren van dezelfde soort, die den rechterwand van de holte vormen. Het dikker zijn van dezen wand is dus niet het gevolg van een grooter aantal micromeren, maar van de meer aanzienlijke grootte der overgangsblastomeren.

Een ander ei, H, dat eveneens 112 uur na het leggen gefixeerd werd, is meer ontwikkeld, fig. XIII, pl. VI; de grens tusschen micromeren en overgangsblastomeren is duidelijk afgebakend en meer naar den aequator verschoven dan bij ei G het geval was; de macromeren zijn door talrijke latitudinale gleuven in betrekkelijk kleine cellen gedeeld, die vrij geleidelijk overgaan in de overgangsblastomeren.

Dit ei werd met zuren haemalaun gekleurd en in verticale coupes van $15\ \mu$ gesneden.

De klievingsholte wordt niet meer door eenige schotten en pijlers, uit overgangsblastomeren opgebouwd, verdeeld in twee, door wijde openingen samenhangende, afdeelingen, zooals in ei G het geval was, maar stelt nu één ruimte voor, welker grootste afmetingen (op een mediane coupe) zijn: $800\ \mu$ diep en $2\frac{1}{2}$ mM. breed, terwijl zij zichtbaar is op 190 coupes van $15\ \mu$. Haar dak is 3—5 lagen van micromeren dik, waarvan de grootste afmeting op zijn hoogst $120\ \mu$ bedraagt; naar de vegetatieve pool toe neemt het aantal der lagen en ook de grootte der micromeren toe, zoodat de wanden van de klievingsholte weer door overgangsblastomeren gevormd worden. Ook de bodem bestaat uit deze cellen, maar terwijl de binnenvlakte van dak en wanden betrekkelijk effen is, verkeerden de bodemcellen in zoo'n levendig deelingsstadium, dat daar talrijke nauwe gangen en spleten ontstaan en de blastomeren sponsachtig samengevoegd zijn. De overgangsblastomeren van den bodem zijn grooter dan die van de wanden, en gaan naar de vegetatieve pool toe geleidelijk in de macromeren over. Zonder eenigen twijfel staan in dit ei geen macromeren meer met elkaar in verband, tenzij zij juist in een deelingsstadium verkeerden; voor het eerst dus treffen wij met zekerheid geen ongedeelde centrale massa meer aan. $1500\ \mu$ is de grootste afmeting, die enkele der macromeren nog bezitten. Aangaande het dooiermateriaal, dat hen vormt, dient medegedeeld te worden, dat korrels van $35\ \mu$ niet meer voorkomen, en die van 25 — $30\ \mu$ veel minder talrijk geworden zijn, zoodat zij geïsoleerd in fijnkorrelig materiaal liggen; de meerderheid der overgangsblastomeren bestaat uit een zeer gelijkmatige massa van korrels van $15\ \mu$; enkele der micromeren zijn eveneens geheel of gedeeltelijk met dit materiaal gevuld, maar de overige micromeren bezitten zeer kleine korrels, tot niet meer meetbare toe.

De kernen bezitten in geen der cellen een kernhof; indien zij niet verkeerden in een der bekende deelingsfasen, vertoonen zij den gelapten vorm. Die der micromeren meten gemiddeld $30\ \mu$; die van de macromeren, welke zeer doorschijnende blaasjes zijn, gaan tot $75\ \mu$.

In dit ei namen wij dus waar: *één onverdeelde klievingsholte, waarvan het geheele dak gevormd wordt door micromeren, gerangschikt in 3—5 lagen; een volkomen doorkliefde centrale massa; kernen, die voor het meerendeel den knolvormigen vorm bezitten, niet door een kernhof omringd zijn, en in de macromeren grootere afmetingen hebben dan in de micromeren.*

Stadium van 136 uur.

Van een ei I, dat 136 uur na het leggen gefixeerd werd, kan een afbeelding van een zijkant en een van de onderzijde gegeven worden, pl. VI, fig. XIV A en B.

Een beschrijving is overbodig, daar een blik op de figuren voldoende zal zijn, om waar te nemen, dat de klieving verder is voortgeschreden.

Op verticale coupes, die ongeveer mediaan zijn, zien wij (fig. V pl. IX) een ruime klievingsholte, waarvan het dak aan de animale pool over een afstand van, op zijn hoogst, 5 cellen, eenlagig is; naar de vegetatieve pool toe wordt het aantal der cellagen, dat de wanden vormt, geleidelijk grooter, totdat het, bij den overgang in den bodem van de klievingsholte, tot ongeveer 10 gestegen is.

Dit bovenste, eenlagige deel van het dak is zichtbaar op 21 coupes van $20\ \mu$; op de coupe, waar het het langst is, meet het $450\ \mu$, zoodat in dit ei de klievingsholte van boven gedekt wordt door een rond vlak van ongeveer $400\ \mu$ middellijn, waarin de micromeren in één laag gerangschikt liggen. De hoogte der micromeren bedraagt hier $100\ \mu$.

Overigens zijn de verschillen met het hierboven beschreven stadium geen andere dan die, welke het directe gevolg zijn van de verder voortgeschreden ontwikkeling, en bestaan dus hierin, dat het aantal der cellen gestegen is.

Het karakteristieke van dit ei I is, *dat het dak aan de animale pool over een afstand van $400—450\ \mu$ door slechts één laag van micromeren samengesteld wordt.*

Stadium van 160 uur.

Den 26^{sten} September, 160 uur na het leggen, werd een ei gefixeerd, waarvan men op plaat VI, fig. XV A en B, de afbeeldingen van een zijkant en de onderzijde vindt. Het gebied der micromeren heeft zich aanmerkelijk uitgebreid; het beslaat de gansche animale eihelft, zoodat de grens tegen de overgangsblastomeren iets beneden den aequator gelegen is. Dit ei werd niet in coupes gesneden.

Een dergelijk ei, M, waarvan ik evenwel geen afbeeldingen kan geven, werd in toto gekleurd met parakarmijn en in verticale coupes van 15μ gesneden; daaruit is gebleken, dat de genoemde kleurstof weinig geschikt is voor dit materiaal, daar zij zoowel zeer slecht indringt, niettegenstaande het hooge gehalte aan alkohol, als zeer flauw kleurt.

De klievingsholte is zeer ruim; slechts door de 56 eerste en de 53 laatste coupes wordt zij niet aangesneden ¹⁾, terwijl zij op een mediane coupe 4,5 mM. lang is; haar hoogte is niet te meten, daar bij het fixeeren het dunne dak ingevallen is en op enkele plaatsen zelfs op den bodem rust, maar, toen het ei leefde, heeft zij zeker 2 mM. bedragen.

Op coupes, die nog ver van het mediaanvlak verwijderd zijn, is de klievingsholte een scherp begrensde ruimte, pl. IX, fig. VI; de cellen, die haar wanden vormen, liggen dicht aaneengesloten, en hebben, daar slechts zeer enkele in een deelingstoestand zijn, weinig uitwassen in de holte. Een sponsachtige rangschikking van deze cellen wordt derhalve niet waargenomen.

Het dak is hier 650μ dik en wordt gevormd door een tiental lagen van micromeren, die bijna alle gevuld zijn met zeer fijnkorrelig dooiermateriaal, hoewel er op elke coupe steeds eenige voorkomen, die uitsluitend korrels van 20—25 μ bevatten; vooral aan de onderzijde van het dak worden dergelijke micromeren gevonden. Wordt met deze coupe een mediane vergeleken, dan is

1) In het geheel zijn er 423 coupes.

de veel grootere klievingsholte het eerste, dat opvalt. Ik moest reeds mededeelen, dat zij haar oorspronkelijken vorm in dit gedeelte van het ei door het ingedeukt zijn van het dak niet bewaard heeft; toch is nog duidelijk zichtbaar (pl. IX, fig. VII), dat het rechtergedeelte (in de figuur) veel dieper tusschen de overgangsblastomeren indringt dan het linker. Ook verschillen deze deelen in vorm; het rechter eindigt spits, terwijl de bodem van het linker meer afgerond is.

Door gebrek aan materiaal kan ik niet onderzoeken, of dat verschijnsel zich toevallig bij dit eene ei voordoet, dan wel of het bij alle eieren voorkomt, die in dit blastulastadium verkeerden; ik meen evenwel dit verschijnsel niet te mogen verzwijgen wegens de groote gelijkenis, die er bestaat tusschen dit beeld en de figuren, welke BRACHET geeft van *Amblystoma*-eieren in een even oud stadium, zoodat misschien ook bij *Megalobatrachus* een »clivage gastruléen'' gevonden wordt.

Het dak is veel dunner op deze mediane coupe dan in de boven beschrevene; op de animale pool is het $200\ \mu$ dik (soms iets minder nog) en wordt daar opgebouwd door 3 of 4 lagen van micromeren; naar de vegetative pool toe stijgt de dikte zeer langzaam, zoodat zij op de grens van wand en bodem ongeveer $480\ \mu$ bedraagt en daar bestaat uit 5 of 6 lagen van micromeren. De binnenvlakten van dak en wanden zijn even glad als op de plaatsen zijdelings van het mediaanvlak; de bodem daarentegen is veel meer oneffen dan daar het geval is. Vooral in het midden er van verkeerden de overgangsblastomeren in een levendig deelingsstadium, zoodat hier talrijke pas afgesnoerde cellen in de klievingsholte uitsteken, en de bodem op deze plaats den bekenden sponsachtigen bouw bezit; ook is op deze mediane coupe zichtbaar, dat de blastomeren, die den bodem vormen, ter zijde van dit los gebouwde centrum, meer compact samengevoegd zijn, waardoor daar hetzelfde beeld ontstaat, als de bodem op een zijdelings van het mediaanvlak gelegen coupe heeft. Vervolgen wij de serie verder, dan blijkt het dak niet zoo dik te worden, als het op de eerst beschreven coupe is; op die coupes, waar de klievingsholte op

het punt staat te verdwijnen, heeft het een dikte van $480\ \mu$, terwijl het aan de tegenovergestelde zijde van het ei $650\ \mu$ dik is. Was derhalve een snijrichting gevolgd, loodrecht op diegene, welke toegepast is, dan zou in de eene helft van een mediane coupe de wand zich veel dikker getoond hebben dan in de andere.

De kernen bieden geen verschillen met hetgeen waargenomen werd in de laatst beschreven eieren; bijna alle hebben den gelapten vorm, en worden onmiddellijk door dooierkorrels omringd, daar kernhoven ontbreken.

Dit ei M wordt derhalve gekenmerkt door *een zeer ruime klievingsholte, waarvan het dak naar gelang van de plaats een zeer verschillende dikte heeft; in het midden is het het dunst, terwijl één der wanden veel dikker is dan de andere; de klievingsholte is van binnen glad, behalve in het midden van den bodem, waar de overgangsblastomeren sponsachtig gerangschikt zijn.*

Tegelijk met het vorige ei werd ei N gefixeerd in formol 4%. Uitwendig kon ik met Zeiss oc. 2, obj. a_0 geen celgrenzen waarnemen; het werd gekleurd met azijnzuren aluinkarmijn, en in verticale coupes van $15\ \mu$ gesneden. Daaruit blijkt, dat tijdens de fixatie de animale pool naar onderen heeft gelegen, waardoor het dak van de klievingsholte geheel afgeplat en tegen den bodem van de holte aangeperst is. Of de blastomeren, die het centrum van den bodem vormen, evenals bij ei M in een levendiger deelings-toestand zijn, dan degene, die meer aan de kanten liggen, is om de genoemde reden niet meer uit te maken; wel is waarneembaar, dat het midden van het dak, dus dat deel, dat de animale pool vormt, veel dunner is dan de wanden, en hoogstwaarschijnlijk over een betrekkelijk grooten afstand eenlagig is. Dat een der wanden duidelijk dikker zou zijn dan de drie andere, zooals bij ei M waargenomen werd, heb ik niet kunnen vinden, doch dit is waarschijnlijk eveneens aan de afplatting te wijten. De reden, waarom ik dit ei bespreek, is, dat de dooierkorrels den aluinkarmijn weinig en de celgrenzen deze kleurstof in het geheel niet hebben aangenomen, de kernen daarentegen, vooral die

van de animale eihelft, zeer sterk, zoodat zij zich buitengewoon scherp afteekenen; daardoor zijn mij enkele ongewone kernvormen opgevallen, die ik met een enkel woord bespreken wil.

Vooreerst dient meegedeeld te worden, dat alle kernen, tenzij zij in mitose zijn, evenals in vele der tot nog toe beschreven eieren, den knolvormigen of gelapten vorm bezitten, of bestaan uit een zeker aantal geheel of bijna geheel geïsoleerde idiomeren. Meestal hebben deze het bekende fijn gepointeerde uiterlijk door de sterk gekleurde zeer kleine chromatinekorreltjes, liggend in het heldere karyohyaloplasma, en veelal met elkaar in verbinding door een fijn netwerk; dikwijls ook ziet men scherp begrensde chromatinedraden in meandrische lijnen op den ongekleurden kernwand. In deze laatste gevallen is door instelling op verschillende hoogte duidelijk waarneembaar, dat het chromatine wandstandig is, wat mij in de eerste niet mogelijk was met zekerheid te constateeren. Een concentratie van het chromatine in een of twee nucleolen, of een duidelijk gonomeren toestand van de kern, zooals, wat Amphibiën aangaat, HÄCKER (1902) teekent en beschrijft van de cornea van Siredon en vom RATH (1893) van de geslachtsklieren van Salamandra, heb ik nooit waargenomen. De andere vormen, welke door hen en o. a. ook door VAN DER STRICHT (1892) afgebeeld zijn, komen voor, eveneens de ringvormige van vom RATH.

Niet onbelangrijk is misschien de mededeeling, dat in het volgende aanwezige ei, hetwelk 48 uur na dit ei N gefixeerd werd, en in een vrij ver ontwikkeld gastrulastadium verkeert, deze opbouw der kernen door idiomeren niet meer gevonden wordt, doch dat bijna al haar kernen bestaan uit een ovale blaas. Ook in de latere stadiën wordt de gelapte kernvorm niet meer waargenomen.

De afmetingen der kernen varieren zeer naar gelang van het aantal, de grootte, de rangschikking en het meer of minder in samenhang zijn van de idiomeren, maar de grootste kernen zijn gewoonlijk niet meer dan 40 μ in diameter; verreweg de meeste blijven beneden deze maat.

In dit ei echter worden een zestal chromatine-ophooping

gevonden, welke reusachtige afmetingen bereiken door het zeer groote aantal der opeenliggende kernblaasjes. Een dezer kernen(?) is zichtbaar op negen coupes van 15μ ; haar grootste lengte is 120μ , haar grootste breedte 60μ ; het aantal harer idiomen is niet te tellen door hun rangschikking tot één compacte massa; ik meen het evenwel te mogen schatten op minstens 40. Het uiterlijk van het meerendeel dezer idiomen biedt niets abnormaals; een drietal echter is veel scherper gecontoureerd dan de andere, regelmatig van vorm (ongeveer zuiver cirkelrond op de doorsnede) en veel donkerder, homogeen gekleurd, van dezelfde tint als de chromosomen in de mitosen; men zou ze kunnen aanzien voor alleen uit chromatine bestaande korrels, waarvan de grootste 15μ in diameter is. Zij liggen aan de peripherie van deze reuzenkern. Ik heb dergelijke korrels ook op andere plaatsen waargenomen, soms zelfs geheel geïsoleerd tusschen de dooierkorrels, maar in den regel in de buurt van de grootste der normale kernen, terwijl zij bij alle reuzenkernen voorkomen; dikwijls ook zitten zij als massieve, kleine knoppen op groote, licht gekleurde kernblaasjes, welker chromatine in den toestand van kleine korreltjes verkeert of in dien van de meandrisch gewonden draden (pl. X, fig. 3). Sommige blijken bij beschouwing met immersiesysteem niet een volkomen homogene structuur te bezitten, maar vertoonen enkele lichtere plekken.

De beteekenis en de ware aard dezer korrels zijn mij onbekend; dooierkorrels zijn het in geen geval; daarvan onderscheiden zij zich door de veel intensievere kleur en bovendien door den innigen samenhang, waarin zij zich meestal met de idiomen bevinden. Dikwijls worden beelden waargenomen, welke zeer gelijken op afbeeldingen, die HÄCKER (1902) geeft van *Diaptomus denticornus* en *D. laciniatus*; wordt in zijn fig. 16, 17, 19 en 20 de nucleolus weggedacht, dan komen deze met mijn waarnemingen overeen.

Of echter deze overeenkomst iets anders is dan een schijnbare en misschien de waargenomen korrels als ektosomen moeten beschouwd worden, en de kernen (reuzenkernen?), waarvan zij afstammen, als van die oergenitaalcellen, kan ik aan mijn materiaal niet be-

slissen; ik wil dus hiermee slechts de aandacht op de mogelijkheid er van vestigen.

Dat ik deze korrels niet heb waargenomen bij de vorige eieren, is daarvan een gevolg, dat door de andere kleurstoffen de dooierkorrels even sterk als zij getingeerd zijn.

Ook de vraag, hoe wij de reuzenkernen moeten beschouwen, kan ik niet beantwoorden. Misschien kan eenig licht worden verspreid door het feit, dat enkele malen in dit ei ook reuzenmitosen worden waargenomen. Een dezer wordt getroffen door zes coupes van $15\ \mu$, terwijl de mitosen van normale grootte op hoogstens drie zichtbaar zijn; zij vertoont niet het beeld van het monaster- of dyasterstadium, maar is een ongeveer ronde massa ($65\ \mu$ in diameter), die gevormd wordt door in alle richtingen door elkaar liggende stukken van chromatinedraden. De dikte van deze chromatinestukken bedraagt $2\ \mu$, en is gelijk aan die van de chromosomen van een normale mitose. Er is onmiskenbaar een veel grootere hoeveelheid chromatine in deze reuzenmitosen aanwezig dan in de normale mitosen; of echter ook het aantal chromosomen grooter is, kan op deze coupes niet uitgemaakt worden, want wegens hun groote hoeveelheid zijn zij zelfs in de normale mitosen niet te tellen. Is het aantal in reuzen- en normale mitosen gelijk, dan moeten de chromosomen van de eerste veel langer zijn dan die van de laatste, daar hun dikten gelijk zijn.

Zijn de aantallen ongelijk, dan moet dat van de reuzenmitosen, dunkt mij, een twee- of viervoud (misschien 8-voud) van het normale aantal zijn; wij zouden dit aldus kunnen verklaren, dat na een kerndeeling de dochterkernen zich niet ver van elkaar hebben verwijderd, en vervolgens de idiomeren, die gevormd worden uit de dochterchromosomen, zich daarna weer tot één massa vereenigd hebben; bij de volgende deeling, die de dochterkernen moeten ondergaan, en die in beide hoogstwaarschijnlijk synchronisch zal verlopen, kunnen, door het vermengd zijn der elementen van de beide kernen, niet de normale kerndeelingsfiguren gevormd worden, en kan de massa van door elkaar gevlochten chromatinedraden ontstaan, die wij hebben waargenomen.

Ik heb nooit gezien, dat in of bij een reuzenmitose zich idiomeren bevinden, die in een rustperiode verkeeren; hetgeen natuurlijk het geval zou moeten zijn, als de deeling der niet-gescheiden dochterkernen niet synchronisch verliep.

Ook HÄCKER (1902) beeldt een reuzenkern af in zijn fig. 44, voorstellend een coupe door de cornea van Siredon; in plaats van twee zijn daarin vier nucleolen aanwezig. In den tekst wordt het meermalige voorkomen van deze reuzenkernen vermeld en ook het vermoeden uitgesproken, dat zij door versmelting ontstaan zouden zijn. Over eenige reuzenmitose wordt helaas geen mededeeling gedaan.

Stadium van 208 uur.

Hoewel ei O reeds een vrij ver ontwikkelde gastrula is, en derhalve door mij niet uitvoerig besproken zal worden, acht ik het toch nuttig op pl. VI, fig. XVI A—C, den uitwendigen vorm er van weer te geven. Vergelijkt men nl. deze afbeeldingen met fig. XV A en B, welke betrekking hebben op ei M, dan neemt men waar, dat de grootte der blastomeren bij beide eieren ongeveer gelijk is, en de vegetatieve blastomeren van ei O zeker niet kleiner zijn geworden dan zij in het 48 uur jongere ei M waren.

De klieving is derhalve in de vegetatieve eihelft afgelopen, of verkeert in een ruststadium, wanneer de oermond gevormd is, en halverwege tusschen aequator en vegetatieve pool den halven ei-omtrek beslaat.

VERGELIJKING.

Hoewel zich in mijn materiaal enkele gapingen bevinden, is de serie toch uitstekend geschikt om een vergelijking te maken tusschen het klievingsproces van het *Megalobatrachusei* en dat van andere eieren. Daarvoor komen slechts dooierrijke holoblastische eieren van lagere Vertebrata in aanmerking; meroblastische en de holoblastische van enkele Marsupialia en der Placentalia laat ik buiten beschouwing.

Menopoma. Door REESE's mededeeling van 1904 is slechts weinig bekend omtrent het afgezette, maar onbevruchte ei. Het is rond, 6 m.M. in middellijn, geel gekleurd, en »enclosed in a very thin and delicate vitelline membrane". Klaarblijkelijk zijn geen coupes gemaakt, want aangaande de samenstelling wordt slechts vermeld: »The yolk, which is apparently evenly distributed throughout the egg, is made up of a compact mass of granules of various size". Bovendien vinden wij een afbeelding van eenige dooierkorrels, die toont, dat haar vorm iets onregelmatiger is dan die van normale van *Megalobatrachus* of *Salamandra*, en bij mij het vermoeden wekt, dat zij afkomstig zijn van een gedegenereerd ei. Dergelijke beelden tenminste heb ik waargenomen bij abnormale eieren van *Megalobatrachus*.

Necturus. Ook het ei van *Necturus* is kleiner dan dat van *Megalobatrachus*; volgens FÜLLEBORN (1894) is het 6 m.M. in diameter, bijna zuiver wit met een lichtgele tint, die het sterkst is aan de vegetatieve pool. Aangaande de klieving vernemen wij van hem niet anders, dan dat de eerste gleuven eerst dagen na het leggen der eieren geheel gevormd zijn.

Iets meer — maar alleen over oppervlaktebeelden — vinden wij in eenige mededeelingen van EYCLESHEIMER (1898, 1902, 1904), die handelen over de bilaterale symmetrie van het *Necturus*-ei en de plaats van het embryo er op. Evenals bij *Megalobatrachus* is er een »meroblastic tendency».

Of ook bij den reuzensalamander een dergelijk asymmetrisch verloop van de eerste en tweede gleuf voorkomt, zooals de schemata 21—24 van EYCLESHEIMER (1904) te zien geven, kan door het ontbreken van eieren uit deze stadiën in mijn materiaal niet medegedeeld worden. Van eieren uit het derde klievingsstadium kon ik een zestal afbeelden (pl. V, fig. II—VII); deze alle zijn, zooals men zich zal herinneren, gekenmerkt door acht verticale gleuven, waarvan geen enkele neiging vertoont een latitudinaal verloop te nemen; wel bestaat er groot verschil in de afmetingen der blastomeren, maar variatie in de richting der gleuven komt niet voor. Bezien wij daarentegen EYCLESHEIMER's figuren 25—31 en 43, welke laatste men op de volgende bladzijde als tekstfiguur 1 vindt, en die alle het derde klievingsstadium betreffen, dan blijken fig. 26, 27, 34 en 37 de eenige te zijn, in welke de tertiaire gleuven een verticaal verloop hebben, dus geen micromeren afsnoeren; zij alleen vertoonen eenige gelijkenis met mijn figuren B¹—B⁶; evenwel zijn op fig. 26 en 27 de beide helften van de secundaire gleuf vrij van tertiaire gleuven, terwijl bij mijn materiaal altijd slechts één helft van de eerste of de tweede gleuf vrij van jongere gleuven is.

Op de overige 11 afbeeldingen van EYCLESHEIMER zijn een, twee, drie of vier der tertiaire gleuven latitudinaal gericht; in het laatste geval worden dus reeds na de derde kerndeeling vier micromeren gevormd, en wordt men herinnerd aan het 3^{de} klievingsstadium van *Amphioxus* en *Anura*, hoewel de klieving hier bij *Necturus* veel meer inaequaal is.

Op tekstfiguur 1 is de variabiliteit in den loop der tertiaire gleuven zeer duidelijk, daar twee latitudinaal en twee verticaal gericht zijn.

Betreffende het vierde klievingsstadium geeft EYCLESHEIMER een afbeelding, die hier als tekstfiguur 2 gereproduceerd is.

Hetzelfde ei als van tekstfig. 1 ligt eraan ten grondslag. Met dit stadium kan alleen mijn ei C vergeleken worden, dat

Tekstfig. 1.

Ei van *Necturus* in derde klievingsstadium, iets gewijzigd naar EYCLES-HEIMER; de stippellijnen stellen de eerste en tweede gleuf voor, de gestreepte de tertiaire.

Tekstfig. 2.

Ei van *Necturus* in vierde klievingsstadium, iets gewijzigd naar EYCLES-HEIMER; eerste, tweede en derde gleuven, als bij tekstfig. 1, vierde gleuven door rechte lijnen.

als tekstfiguur 3 afgebeeld is; de primaire, secundaire en tertiaire gleuven zijn ook hier verticaal, evenzoo twee (κ en λ) van die van het vierde klievingsstadium, welke overigens latitudinaal verlopen. Bij vergelijking blijkt ten duidelijkste, dat bij *Megalobatrachus* de gleuven van dit stadium eerst den loop nemen, dien bij *Necturus* sommige of alle van het vorige stadium reeds genomen hebben.

Later kom ik hierop terug.

Ik wil niet nalaten terloops op te merken, dat ook bij *Megalobatrachus* het eerste klievingsvlak door de latere gleuven zeer van gedaante verandert, en op de eioppervlakte een kronkelenden loop aanneemt (tekstfig. 3), waardoor, evenals bij *Necturus* (tekstfig. 2) het mediane vlak van het embryo on-

Tekstfig. 3.

Ei C van *Megalobatrachus*; vierde klievingsstadium; de ouderdom der gleuven is als in de vorige tekstfiguur aangegeven.

mogelijk er mede kan samenvallen.

Salamandra. Over dit dooierrijkste der bekende Salamandriden-

eieren (3,8—5 m.M.) bezitten wij, behalve de vrij korte mededelingen van KUPFFER (1879) en BENECKE (1880), de grondige onderzoeken van GROENROOS, welke ik reeds eenige malen genoemd heb.

Een groote overeenkomst tusschen dit ei en dat van *Megalobatrachus* is niet te miskennen, hetgeen terstond blijkt, wanneer een ovariaalei of een bevrucht ei van *Salamandra* en ei A van *Megalobatrachus* vergeleken worden. Beide zijn met uitzondering van het Ichthyophisei de eenige mij bekende Amphibieëneieren met een zeer groote dooierdifferentiatie, die voor beide ongeveer gelijk is. In overeenstemming met den grooteren diameter van het *Megalobatrachusei* bereiken ook de dooierkorrels daarvan iets grootere afmetingen (35 μ) dan die van *Salamandra* (30 μ).

Schijnbaar bestaat een verschil, doordat in het *Megalobatrachusei*, de beschreven kegel door het fijnkorrelige kiemveld voorkomt 26, en deze niet gevonden is in het *Salamandra*-ei, doch waarschijnlijk is dit hiervan het gevolg, dat GROENROOS slechts ovariaaleieren met kiemblaasje en één bevrucht ei kon onderzoeken, terwijl ik afgezette, onbevruchte eieren, welke geen spoor van kiemblaasje meer vertoonden, tot mijn beschikking had. Aangaande het ovariaalei schrijft GROENROOS, dat het kiemblaasje er van bijna geheel in de fijnkorrelige massa is gelegen, maar met zijn onderzijde op den grofkorreligen dooier rust, terwijl de afstand tusschen de animale pool en het kiemblaasje slechts 150 μ bedraagt. Terzijde van het kiemblaasje wordt door GROENROOS de reeds door mij aangehaalde strook van grove korrels gevonden, die het kiemblaasje bij het opstijgen meegesleurd zou hebben.

Hoogstwaarschijnlijk is de ligging van het kiemblaasje van *Megalobatrachus* dezelfde als bij *Salamandra*; omdat het bij de vorming van het eerste poollichaampje zeer in omvang afneemt, kan men zich voorstellen, dat de vrij komende ruimte opgevuld wordt door het onderliggende materiaal. Aldus zou de grofkorrelige kegel, derhalve ook de buitengewone dunheid van het kiemveld op een zeer klein gedeelte van de animale pool, verklaard kunnen worden. Ook in latere stadiën blijft het kiemveld in het midden zeer

dun; GROENROOS geeft het op voor ongekliefde Salamandra-eieren en voor die, welke in het eerste klievingsstadium verkeerden.

Geen dezer beide eieren bezit een duidelijke verbinding van fijnkorrelig materiaal tusschen het kiemveld en de centrale massa, zoodat een latebra, die P. en F. SARASIN in het ovariaalei van *Ichthyophis* gevonden hebben, bij deze Urodelen, in zeer jonge stadiën tenminste, niet voorkomt.

Wat de eihulsels van *Salamandra* betreft, schrijft GROENROOS: »dem Eie am nächsten und zwar demselben wohl sehr enge anliegend, findet sich eine ausserordentlich zarte Membran, die Dotterhaut der Autoren." Oogenschijnlijk is dit bij *Megalobatrachus* ook het geval; bij nadere beschouwing met immersiesysteem en compensationsocular blijkt echter, dat centraalwaarts van het 1 μ dikke »dooiervlies" nog een buitengemeen fijn lijntje voorkomt, dat terstond de dooierkorrels omringt en op sommige plaatsen de ruimten tusschen eenige korrels overbrugt. Op pag. 32 werd reeds medegedeeld, dat dit lijntje aan de klieving deelneemt, en de wanden van de eigenlijke gleuven vormt, dat op den bodem daarvan (pl. X, fig. 2) de beiderzijdsche lijntjes zich vereenigen en als één vlies zeer diep tusschen de dooierkorrels te vervolgen zijn; bij de oudere eieren werd het steeds waargenomen om alle blastomeren, voor zoover deze geheel begrensd waren; alleen bij het ei, dat met azijnzuren aluinkarmijn gekleurd was, bleef het onzichtbaar. Deze kleurstof is »meistens" door GROENROOS aangewend, wat zeer te betreuren is. Waren door hem vele andere gebruikt, dan zou hij niet geschreven hebben: »Da die Zellen keine Membran besitzen, treten die Dotterelemente überall¹⁾ frei an die Oberfläche derselben und verdecken an vielen Stellen in den Schnitten die Furchen im Innern des Eies," en zouden teekeningen als de zijne XV² en XVI² niet gepubliceerd zijn. Daartegenover staat, dat alaunkarmijn uitstekend geschikt is om kernen, van welke soort ook, tusschen de dooierkorrels te ontdekken, waardoor het GROENROOS mogelijk was

1) In het oorspronkelijke stuk niet gespatieerd.

zeer kleine, abnormale kernen te beschrijven, die misschien op polyspermie wijzen.

Ik heb zoo iets niet waargenomen, wellicht, doordat tengevolge van de door mij gebruikte kleurstoffen de dooierkorrels meestal even sterk als het chromatine gekleurd waren.

Ik keer evenwel tot de eivliezen terug.

Zonder nader in te gaan op de vraag, of het macroscopisch waarneembare vlies («Dotterhaut») een primair of een secundair eihulsel is, die niet beslist kan worden zonder onderzoek van het ovarium, wil ik toch niet nalaten te wijzen op de overeenkomst op dit punt van de eieren van *Megalobatrachus* en *Triton alpestris*; VAN BAMBEKE (1880) beschrijft bij de laatste 1° »une membrane vitelline», die deelneemt aan de klieving, en het gevolg is van een condensatie van het periphere protoplasmagedeelte van het ei, en 2° daaromheen een »chorion» van onbekenden oorsprong; de volgende hulsels zijn tertiaire, waarvan de binnenste een holte met vocht omsluit, waarin het ei, omringd door zijn »deux membranes ovariques» zich vrij kan bewegen.

GROENROOS heeft bij *Salamandra* twee typen van eieren waargenomen, een groot en een klein, die door talloze tusschenstadiën verbonden worden. Men zal zich herinneren, dat bij *Megalobatrachus* alle eieren van dezelfde grootte zijn.

Toen een exemplaar van het kleine type, dat in het tweede klievingsstadium verkeerde, door hem in coupes gesneden was, bleek, dat: »die erste Furche das Ei beinahe vollständig in zwei Hälften zerlegt hat.» Iets dergelijks werd bij *Megalobatrachus* niet waargenomen.

In verband met onze waarnemingen bij *Megalobatrachus* en *Necturus*, is het derde klievingsstadium van *Salamandra* zeer merkwaardig. GROENROOS heeft drie eieren uit dat stadium gezien, die geen van alle gleuven door de vegetatieve pool bezaten; de animale polen verschillen zeer in uiterlijk, daar op zeer verschillende wijzen latitudinale gleuven en één of twee micromeren zijn gevormd.

Door tekstfiguur 4 wordt het meest regelmatig gekleefde van die drie eieren gereproduceerd. Daaruit blijkt, dat de tertiaire gleuven zich gedragen als bij het *Necturus*-ei uit dit stadium (tekstfig. 1), hoewel bij dit laatste de tekening nog regelmatig is. Op de beide andere door GROENROOS beschreven *Salamandra*-eieren hebben slechts drie gleuven den aequator overschreden, terwijl de helft α van de eerste gleuf nog geheel op de animale eihelft zichtbaar is. In verband daarmee zijn slechts drie tertiaire gleuven ontwikkeld, waarvan op het eene ei twee en op het andere slechts één latitudinaal loopt. De vierde gleuf wordt in beide gevallen gemist in een der quadranten, die α als zijde bezitten.

Tekstfiguur 4.
Ei van *Salamandra* in derde klievingsstadium; iets gewijzigd naar GROENROOS.

Het verloop der gleuven is in het derde klievingsstadium dus zeer inconstant.

Indien wij de beelden van de eieren uit dit stadium van *Megalobatrachus* (pl. V, fig. II—VII), van *Necturus* (tekstfig. 1 en 2) en van *Salamandra* (tekstfig. 4) in onze herinnering terugroepen, dan valt ons op, dat met het afnemen van de grootte (7, 6 en 3,8—5 m.M.) de variabiliteit in den loop der tertiaire gleuven hoe langer hoe grooter wordt, en vele, zoo niet alle, dezer gleuven, een latitudinale richting aannemen. Bij *Megalobatrachus* waren bij alle 6 eieren al deze gleuven verticaal en zelfs ongeveer meridionaal; bij *Necturus* was dit slechts het geval bij 4 der afgebeelde eieren uit dit stadium ($\pm 25\%$), waarvan maar bij één neiging tot meridionalen loop waar te nemen was, terwijl in één geval 4 micromeren gevormd werden; bij *Salamandra* vertoonde één der 3 eieren 4 tertiaire gleuven, waarvan twee verticaal en twee latitudinaal liepen; bij de beide andere waren slechts 3 van dergelijke gleuven ontwikkeld, van welke een of twee latitudinaal verliepen.

De beschrijving der coupes door deze eieren toont, dat de bouw in vele opzichten met dien van het *Megalobatrachusei* overeenstemt. Ik sprak er reeds van, dat GROENROOS hier een binnenste pericentrale zone gevonden heeft, die in de jongere eieren niet voorkomt; ook bij *Megalobatrachus* is dat het geval, evenwel met dit verschil, dat bij *Salamandra* het centrum uit korrels bestaat, die grover zijn dan die van de binnenste pericentrale zone, terwijl zij bij *Megalobatrachus* nog fijner dan die van de pericentrale zone II zijn.

Ook het binnendringen van fijnkorrelig materiaal in de grofkorrelige zones langs de gleuven en het voorafgaan er van aan deze, komt bij *Salamandra* voor, doch de fijne protoplasmastreep er in heeft GROENROOS wegens zijn hiervoor ongeschikte kleurstof niet waargenomen.

De klievingsholte in dit stadium bestaat bij beide Urodelen uit enkele kleine holten, al of niet met elkaar in verbinding staande, en grotendeels in den grofkorreligen dooier gelegen.

De onregelmatigheid in het gedrag der gleuven is toegenomen in het vierde stadium, waarvan men zich kan overtuigen door GROENROOS' afbeeldingen X en XI te vergelijken met mijn fig. VIII, pl. V of tekstfig. 3. Ook inwendig gedragen zich de gleuven zonderling; daar zijn de vlakken niet overal recht, maar hier en daar gekronkeld en gevouwen (cf. fig. X¹ van GROENROOS); ik heb zoo iets niet bij *Megalobatrachus* waargenomen; ook geen kernlooze dooiercytoiden.

Beide eieren hebben in dit stadium nog een ongedeelde centrale massa gemeen. Wat de kernen betreft, bij *Salamandra* bezitten slechts sommige een kernhof, terwijl bij *Megalobatrachus* dit bij alle het geval is. In de laatste klievingsstadiën heeft GROENROOS het geheele ei doorkliefd gevonden, wat ik waarnam bij ei H van den reuzensalamander.

Het dak van de klievingsholte, dat uit eenige lagen van micromeren bestaat, vertoont een dergelijke eigenaardigheid als ei G van *Megalobatrachus*; er is echter in zooverre verschil, dat de verdikking bij *Salamandra* »in der Gegend des Keimpoles»

gelegen is, en niet zich op een der wanden van de klievingsholte bevindt. GROENROOS beschouwt haar als een toevalligheid.

De knolvormige en gelapte kernen komen veel voor, maar zij schijnen niet zoo talrijk te zijn als bij *Megalobatrachus*, waar in deze stadiën eigenlijk geen normale kern te vinden is; bovendien bestaan de »multiple'' kernen bij *Salamandra* uit minder (2—4) kernblaasjes (idiomeren) dan bij mijn object, waarin (de reuzenkernen niet medegerekend) tot 10 idiomeren toe één kern samenstellen.

Al deze kernvormen werden slechts waargenomen in de cellen van het dak der klievingsholte, maar nooit in andere, terwijl zij bij *Megalobatrachus* overal gevonden worden.

De blastulae verschillen nog al. Vooreerst dient opgemerkt te worden, dat GROENROOS afwijkende kernvormen slechts voor enkele macromeren vermeldt, terwijl bij *Megalobatrachus* in deze stadiën geen andere, tenzij mitosen, gevonden worden; daar mis ik ze eerst bij de duidelijk gevormde gastrula.

Uit al deze feiten blijkt, dat de gelapte, knolvormige en multiple kernen bij *Salamandra* in kleiner getale voorkomen, en bovendien in niet zoo oude stadiën als bij *Megalobatrachus*. GROENROOS beschouwt ze met BELLONCI als bijzondere fasen van het karyokinetische kerndeelingsproces, die waargenomen worden vóór den terugkeer van de kern in het ruststadium, en verwerpt de veronderstelling, dat zij iets met een directe kerndeeling uit te staan zouden hebben. Mijn waarnemingen stemmen derhalve geheel met de zijne in dit opzicht overeen.

Een andere ongelijkheid is, dat bij *Salamandra* op geen plaats het dak eenlagig wordt, en nergens een cel voorkomt, die met den bovenkant het ei-oppervlak en met de benedenzijde den binnenwand van de klievingsholte helpt vormen. Bij *Megalobatrachus* daarentegen wordt waargenomen, dat in zeker blastulastadium (ei E) het dak op de animale pool uit één laag micromeren bestaat, en dat deze area bij oudere blastulae zich heeft uitgebreid, terwijl zij ook bij de gastrulae het dak van de klievingsholte vormt.

Voorts zijn bij *Salamandra* de wanden van het dak alle even

dik; bij *Megalobatrachus* verschillen zij zeer; en eindelijk komt in de blastula van *Salamandra* niet voor de sponsachtige rangschikking der blastomeren in het centrum van den bodem der klievingsholte, zooals ik beschreef voor ei L van den reuzensalamander.

De waarnemingen van GROENROOS (1895) aangaande *Salamandra* komen niet overeen met die van KUPFFER (1879) en van BENECKE (1880). Deze beide auteurs constateerden de totale, inaequale klieving van dit ei; KUPFFER vond reeds micromeren, vóórdat de eerste en tweede gleuf den aequator overschreden hadden, terwijl reeds 30 micromeren bestonden, toen de vegetatieve pool bereikt werd; in den loop der ontwikkeling werd het verschil in grootte van micro- en macromeren hoe langer hoe geringer, totdat ten slotte een gelijkmatige blastula ontstond met alle segmenten van dezelfde afmetingen. Ook geeft KUPFFER op, dat een BAER'sche holte ontbreekt; de bedoeling van deze mededeeling is mij niet duidelijk, daar in de volgende regels gelezen wordt, dat een holte, ontstaan door het groeien van de blastoporuslip (dus de oerdarmholte volgens de hedendaagsche nomenclatuur) zich vereenigt met een »Urdarmhöhlung'', gevormd tusschen de blastomeren, welke holte wij derhalve klievingsholte of VON BAER's holte zouden noemen. BENECKE's beschrijving wijkt niet zooveel van die van GROENROOS af. Wel vindt ook hij op de animale pool veel (30) micromeren, vóórdat de eerste gleuf — en spoedig daarna de tweede — door de vegetatieve pool gaat, maar volgens hem blijven de vegetatieve segmenten langen tijd grooter dan de animale. Over het indringen der gleuven geeft geen hunner eenige mededeeling.

Indien deze laatstgenoemde onderzoekers den normalen toestand onder de oogen hebben gehad, en indien GROENROOS ongewone gevallen gevonden heeft, zou in de jonge klievingsstadiën *Salamandra* meer meroblastische neigingen bezitten dan *Megalobatrachus*, bij welke de eerste gleuf in de meeste gevallen reeds in het derde klievingsstadium de vegetatieve pool doorsnijdt. Het

lijkt mij echter onwaarschijnlijk, dat dit inderdaad het geval zou zijn, vooreerst omdat het reuzensalamanderei aanzienlijk grooter is, terwijl de bouw van beide eieren tot in vele bijzonderheden overeenkomt, en vervolgens omdat ook verscheidene andere opgaven der beide oudere auteurs door het zeer zorgvuldig onderzoek van GROENROOS niet bevestigd zijn geworden.

Over het klievingsproces der overige Salamandrinae en der Amblystomatinae kan ik veel korter zijn.

Door hun geringe grootte worden hun eieren zeer snel geheel door de gleuven doorsneden. Gewoonlijk is de eerste gleuf reeds volkomen, zoowel in- als uitwendig, voordat de tweede verschijnt, hoewel toch in vele gevallen waargenomen is, dat het laatste geschiedt, voordat de eerste gleuf tot stand gekomen is (VAN BAMBEKE 1880, EYCLESHEIMER 1895). In deze gevallen worden wij dus door de samenhangende (4) blastomeren aan de ongedeelde centrale massa van het *Megalobatrachus*- en het *Salamandra*-ei herinnerd.

Door talrijke onderzoekingen is bekend, dat de Tritoneneieren, en ook die der Amblystomatinae, relatief dooierrijker zijn dan die der Anuren. Vooral JORDAN en EYCLESHEIMER toonden dit aan (1894) in een stuk, waarin de klievingssnelheden van Urodelen (*Diemyctylus* en *Amblystoma*) vergeleken worden met die van Anuren (*Rana* en *Bufo*). Er blijkt uit, dat de gleuven bij de eerste langzamer benedenwaarts voortschrijden dan bij de laatste, en voorts, dat bij de Urodelen de tijden, die tusschen twee klievingen verlopen, veel langer zijn dan bij Anuren. Bovendien ligt bij de Urodelen de eerste latitudinale gleuf veel dichter bij de animale pool dan bij de Anuren, zoodat veel kleinere micromeren afgesnoerd worden.

Aangaande de differentiatie van den dooier vind ik slechts deze mededeeling van EYCLESHEIMER (1895) over het ei van *Amblystoma*: »Sections of this stage (eerste klieving) show that the yolk is highly differentiated, the granules at the vegetative pole being largest, and gradually decreasing in size towards the

animal pole until the upper portion is constituted of a finely granular protoplasma."

Dit ei is veel grooter (1,6—3 m.M.) dan die der Tritonen, waarbij, voor zoover mij bekend is, slechts dooierkorrels van gelijke grootte waargenomen worden.

Derhalve is duidelijk, dat de differentiatie, zoowel van de korrels als van de lagen, waarin zij gerangschikt zijn, gelijken tred houdt met de grootte der eieren (Triton, Amblystoma, Salamandra, Megalobatrachus). In tegenstelling met het vorige is, dat de klieving der Tritoneneieren meer dan die van Amblystoma punten van overeenkomst heeft met de waarnemingen, zoowel van GROENROOS als van mij.

Ten aanzien van Amblystoma, vermeldt EYLESHEIMER (1895) in zijn tekst wel, dat de tertiaire gleuven, in plaats van horizontaal te loopen, dikwijls schuin en soms zelfs verticaal gericht zijn, doch hij beeldt slechts eieren met horizontale derde gleuven af, zoodat hij dit als norm schijnt te beschouwen. Aangaande hun plaats van afgaan lezen wij, dat die op elk der helften van eerste of tweede gleuf kan liggen. Een ander verschil is, dat bij Amblystoma het dak der klievingsholte spoedig meerlagig wordt, daarna wel in dikte afneemt, doch slechts tengevolge van het kleiner worden der micromeren, niet door het minder worden van het aantal lagen. Dit blijft zoo in de oude blastula en ook in de gastrula.

In vele der blastulastadiën worden overgangsblastomeren gemist, zoodat daar twee vrij scherp afgescheiden area's zijn, een van micromeren, de animale gepigmenteerde pool innemend, en een van ongekleurde macromeren.

In de oudste stadiën vóór het optreden van den oermond, bestaat dit onderscheid niet zoo scherp meer; van animale naar vegetatieve pool nemen dan de blastomeren zeer geleidelijk in omvang toe.

Een dergelijke, maar nog scherper grens tusschen micro- en macromeren vinden wij bij Triton alpestris, die het meest regelmatige klievingsproces bezit van de Tritonen, (cf. de figuren van GASCO 1880, voor de afscheiding vooral, fig. 18).

De andere Tritonen vertoonen veel onregelmatiger beelden. GROENROOS (1890) en VON EBNER (1893) onderzochten Triton cristatus, doch hun beider publicaties heb ik niet in handen kunnen krijgen. Ik moet mij dus tevreden stellen met de afbeeldingen van GROENROOS, die HERTWIG in het *Handbuch* (1903) overgenomen heeft.

Op fig. 1 is nog duidelijk de ovale vorm zichtbaar, dien de eieren van alle Tritonen na het leggen bezitten, en die eerst gedurende het 4^{de} of 5^{de} klievingsstadium in den ronden overgaat. De eerste gleuf staat als altijd loodrecht op de langste ei-as, met welke de tweede gleuf samenvalt. Van deze laatste nemen de tertiaire haar oorsprong, zooals gewoonlijk bij vele Urodelen het geval is, in tegenstelling met den toestand bij Anuren, waarbij zij van de eerste gleuf afgaan. Haar richtingen kunnen als bij Necturus en Salamandra voor elke gleuf verschillen; zoo zijn zij in fig. II alle latitudinaal, zoodat 4 micromeren gevormd worden; in fig. III is slechts één latitudinaal; derhalve komt het beeld van de animale pool, fig. III^o, overeen met fig. 39 van Necturus (EYCLESHEIMER), terwijl fig. IV^o ongeveer gelijk is aan fig. 26 van Necturus, beide met dit onderscheid, dat de tertiaire gleuven van EYCLESHEIMER's object van de eerste gleuf uit ontstaan. Hetzelfde moet in aanmerking genomen worden bij vergelijking van fig. VI^o van GROENROOS (Tr. alpestris) met fig. 43 van EYCLESHEIMER, die hier als textfig. 1 gereproduceerd is.

Bij Diemyctylus viridescens komt volgens JORDAN (1893) eveneens groote onregelmatigheid in den loop der gleuven voor; na de voltooiing van de tweede gleuf is daar alle regelmatigheid verdwenen.

Over het ei van Desmognathus fusca geeft WILDER (1899) de mededeeling, dat de klieving ervan partiëel is; dit schijnt mij echter eenigszins vreemd, in aanmerking nemend de hardnekkigheid, waarmee groote groepen van nauwverwante dieren aan één wijze van klieving vasthouden, al vallen de grootten der eieren in een der beide uitersten. De eenige uitzonderingen op dezen regel zijn: de Petromyzonten met totale en de Myxinoiden

met partiële klieving; een haai, *Cestracion*, met sporen van een totale klieving, hoewel de eieren der overige *Selachiërs* meroblastisch zijn; en de *Monotremen* en *Phascolarctos* met discoidale klieving hunner eieren tegenover de overige zoogdieren met holoblastische eieren.

Daarom zal misschien de geschiedenis van het ei van *Desmognathus* een dergelijke zijn als die van *Salamandra*, *Alytes* en de *Gymnophionen* ¹⁾, welke ook eerst voor meroblastisch gehouden werden, terwijl hun holoblasticiteit thans volkomen of bijna volkomen (*Gymnophionen*) zeker is.

Hoewel aangaande de laatste in jonge stadiën door de *Sarasins* wel gezegd wordt, dat de klieving ervan partiël is, blijkt daarvan niet veel in hun beschrijving van oude stadiën, waarin nauwkeurig medegedeeld wordt, dat de vegetatieve eihelft kernen gaat bevatten en in blastomeren verdeeld wordt. Ik kan mij daarom volkomen vereenigen met de kritiek, die *GROENROOS* (1895) uitgebracht heeft over het onderscheid, dat de genoemde auteurs maken tusschen partiële en totale klieving.

Het bovenstaande kunnen wij dus als volgt samenvatten: door de buitengewone variabiliteit in de richtingen der tertiaire gleuven herinnert de klieving der *Tritoneneieren* zeer aan die der *Necturus-eieren*, en bovendien somtijds, wanneer alle vier der derde gleuven verticaal gericht zijn aan *Megalobatrachus*. Het uiterlijk der *Tritoneneieren* vertoont zich echter eenigszins anders dan bij beide andere genoemde soorten, daar bij hen de gleuven uitwendig diep insnijden en zoo een bobbelig ei-oppervlak doen ontstaan, terwijl bij de laatste de gleuven slechts fijne lijnen zijn, die het oorspronkelijk gladde ei-oppervlak niet bijzonder wijzigen. De oorzaak hiervan ligt waarschijnlijk in de geringe afmetingen van deze eieren, daar hetzelfde waargenomen wordt bij de kleine *Anureneieren*, en die van *Amblystoma* het midden houden, ook

1) Dit vermoeden vind ik bevestigd door een bericht in de *American Naturalist* van Juli—Augustus 1904, die mij onder het drukken in handen komt. *HILTON* deelt er in mede, dat hij en *WILDER* (nog niet gepubliceerd) zelfstandig tot de conclusie komen, dat de eieren van *Desmognathus* fisia holoblastisch zijn.

wat dit punt betreft, tusschen de eerst genoemde en de Tritonen-eieren. De beide andere afwijkende punten (het spoedig bereikt worden van de vegetatieve pool door de eerste gleuf, en de uniforme dooierkorrels) komen mij voor gevolgen van de kleinheid der Tritoneneieren te zijn.

Ik acht het daarom niet ongerechtvaardigd, de reeks *Megalobatrachus*, *Necturus*, *Salamandra* te vermeerderen met *Amblystoma*, *Triton*. Misschien zou aan deze reeks een diepere beteekenis toe te kennen zijn dan die van een, welke slechts enkele overeenstemmende punten in de klieving van deze Amphibiëneieren aanwijst. De mogelijkheid is niet uitgesloten, dat een groote dooierrijkdom een primitief kenmerk der Urodeleneieren is; dit zou het best bewaard zijn gebleven bij de *Amphiumidae*, (*Megalobatrachus*, *Menopoma*), iets minder bij de *Proteidae* (*Necturus*, *Proteus*), nog minder bij de *Salamandrinidae*, en ten slotte door de *Amblystomatinae* den toestand der Tritonen bereikt hebben. Op deze wijze is het best den samenhang tusschen de genoemde eieren te verklaren, beter, dunkt mij, dan door aan te nemen, dat de oorspronkelijke toestand bij de Tritoneieren te vinden is, en de gewijzigde (dooierrijke) bij dit andere. Wie de klievingsbeelden van een Triton vergelijkt met die van *Amphioxus*, *Petromyzon Planeri* of een Anure, zal de waarschijnlijkheid inzien, dat zoodanige beelden niet ontstaan kunnen door dooiertoename van een holoblastisch ei, daarentegen wel, door het geringer worden van dooiergehalte en afmetingen van oorspronkelijk holoblastische eieren.

Voor deze opvatting pleit, dat juist de vormen, die veel primitieve kenmerken bewaard hebben, deze dooierrijke eieren bezitten: *Amphiumidae* en *Proteidae*, bovendien ook de *Gymnophionen*.

Dat deze de phylogenetisch oudste vormen zijn, wordt des te meer waarschijnlijk, omdat het oudste bekende Urodele fossiel (*Hylaeobatrachus*) een »perennibranchiaat» schijnt te zijn.

Voorts is het onwaarschijnlijk, dat vivipare vormen als *Salamandra* zouden afstammen van dieren met dooierarme eieren.

Misschien wordt nog eenig gewicht in de schaal gelegd, door den grooten dooierrijkdom van de eieren der Dipnoi (die van Lepi-

dosiren zijn even groot als die van *Megalobatrachus*, terwijl de klievingsprocessen veel gelijkenis met elkaar vertoonen).

Ongelukkigerwijze is van de eieren der *Crossopterygii* ongeveer niets bekend; slechts BUDGETT (1901) deelt mede, dat zij »minute» zijn en vermoedelijk in kleine aantallen afgezet worden.

Men zou tegen deze opvatting kunnen inbrengen, dat ook onder de Anuren, waarvan de eieren zich zeer regelmatig klieven (in tegenstelling met de in vele gevallen even groote Urodelen-eieren) en betrekkelijk dooierarm zijn, vormen gevonden worden met zeer groote en zeer dooierrijke eieren, en dat ook bij een dezer de tertiaire gleuven verticaal gericht zijn evenals bij *Megalobatrachus*. Slechts de klieving van twee van dergelijke eieren is onderzocht, nl. *Alytes* door GASSER (1882) en *Rhacophorus* door IKEDA (1902).

Het eerste is 3—5 m.M. in middellijn, derhalve zoo groot als het ei van *Salamandra*. Men zou dus geneigd zijn te verwachten, dat de klievingen eenigermate overeenstemden. Het tegendeel is echter het geval; *Alytes* gedraagt zich volkomen als de andere Anuren niettegenstaande den reusachtigen dooierrijkdom. GASSER schrijft: »Die Furchung des Eies verläuft im Wesentlichen so, wie dieselbe von Götte für den *Bombinator igneus* beschrieben worden ist. In meinen Präparaten erscheint schon bei vier Furchungskugeln ein Spaltraum zwischen diesen.» Derhalve geen spoor van meroblasticiteit.

Meer uitvoerige opgaven over de klieving bezitten wij van IKEDA (1902) aangaande *Rhacophorus*. De tertiaire gleuven verschijnen »in most eggs» symmetrisch op de tweede, op gelijke afstanden van het kruispunt der beide eerste gleuven en zijn verticaal gericht; soms echter gedragen zij zich zooals bij de overige Anuren, en loopen latitudinaal. De vierde gleuven zijn in het eerste, meest voorkomende geval de eerste latitudinale, en scheiden dan 8 micromeren van 8 macromeren, terwijl de meeste der nu volgende gleuven op dat animale deel van het ei begrensd blijven, hetwelk door de 4^{de} gleuven omringd wordt. Van de latere gleuven, de 2^{de} en 3^{de} inbegrepen, kan moeilijk gezien worden,

dat zij tot de vegetatieve pool doorloopen; slechts de eerste is over haar geheele lengte duidelijk. In de latere stadiën worden alle gleuven meer en meer onduidelijk, naarmate men de vegetatieve pool nadert, waardoor de eieren meroblastisch schijnen, dat in de coupes niet het geval blijkt te zijn. Uit het medegedeelde blijkt voldoende, dat er overeenkomst bestaat tusschen de klievingen van dit Rhacophorus-ei en die van de Acipenseriden en van Amia. Het zou derhalve denkbaar zijn, dat ook bij de Anuren dooierrijke eieren een primitief kenmerk vormen, en dat de kleine eieren van de overgrootte meerderheid secundair ontstaan zijn. In dien zin — zij het ook op andere gronden — hebben zich reeds sommigen uitgesproken, zoo b.v. BUDGETT (*Phyllomedusa* 1899): hij »is inclined to think, that we are not always warranted in attributing to alecithal freeswimming larvae a greater biological importance, as far as retaining ancestral characters is concerned, than to heavily yolked embryos." Ook VON MÉHELY, wiens stuk (1904) mij echter slechts door het referaat in het *Zoologisches Zentralblatt* bekend is, deelt zeer bepaald als zijn meening mede, dat aanvankelijk de Anuren, evenals andere klassen der gewervelde dieren, zich door middel van groote dooierrijke eieren voortgeplant hebben.

Het komt mij intusschen voor, dat de uiterst regelmatige klieving der kleine Anureneieren, bij welke de tertiaire gleuven bijna altijd latitudinaal gericht zijn en het geheele ei zeer spoedig door-kliefd wordt, eenigszins met deze hypothese in strijd is; daarom ben ik geneigd aan te nemen, dat de groote dooierrijkdom van sommige Anureneieren een secundair verschijnsel is, misschien een aanpassing aan de »Brutpflege"; op deze wijze is, dunkt mij, gemakkelijker te verklaren, waarom bij Rhacophorus de eerste gleuf het ei in- en uitwendig volkomen in twee blastomeren deelt, terwijl de andere gleuven eerst in zeer late stadiën de vegetatieve pool bereiken.

Op de klievingsverschijnselen afgaande, kunnen wij ons voorstellen, dat de gemeenschappelijke voorouders van Anuren en Urodelen betrekkelijk dooierarme eieren (zooals tegenwoordig de

meerderheid der Anuren nog heeft) bezaten, toen de Anuren zich afscheidden. Deze laatste hebben meerendeels den oorspronkelijken toestand bewaard; van sommige echter zijn de eieren zeer dooierrijk geworden. Na de afsplitsing der Anuren is het dooiergehalte bij de voorouders der Urodelen toegenomen, tot een toestand bereikt werd zooals wij thans nog vinden bij de Amphiumidae en de Proteidae. Deze is vrijwel bewaard bij Salamandra, maar verdwenen bij de Amblystomatinae en de Tritonen, die dus secundair dooierarm zijn. Derhalve kan de voorgeschiedenis ge-

weest zijn, zooals door het hier-naaststaande aangetoond wordt. Of de dooierrijke eieren van vormen als *Desmognathus fusca* en *Autodax lugubris* als iets primairs moet worden opgevat of als iets secundairs, kan zonder nadere nauwkeurige gegevens omtrent de klieving er van niet beslist worden.

De klieving van de eieren der *Dipnoi*, waartoe ik thans overga, daar omtrent de ontogenie der *Crossopterygii* nog niets bekend is, vertoont in vele punten overeenkomst met die van het *Megalobatrachus*-ei.

Lepidosiren (KERR 1900 en 1902) stemt het meest met *Megalobatrachus* in dit opzicht overeen (beider eieren zijn even groot); minder is dit het geval met het kleinere ei (3,5—4 m.M.) van *Protopterus* (BUDGETT 1901, KERR 1902) en het minst met dat van *Ceratodus*, hetwelk (SEMON, 1893 en 1901) slechts 3 m.M. in middellijn is. Opmerkenswaardig is, dat de beide eerstgenoemde Dipnoërs nesten maken, waarin de eieren afgezet worden, en dat de mannetjes, evenals bij den reuzensalamander geschiedt, een »Brutpflege» uitoefenen; over *Lepidosiren* schrijft KERR: »After the eggs are laid the male remains in the nest with them — in a curled-up position from the size of the nest.” Men denkt onwillekeurig aan *Amphiuma* en de Apoden, bij welke echter het wijfje de eieren schijnt te bewaken. Sterker nog wordt men aan de ge-

noemde Amphibieën en vooral aan de *Amphiuma* herinnerd, wanneer gelezen wordt, dat *Protopterus* zijn nest op eenigen afstand van het water maakt; dit bestaat dus uit een met water gevuld gat op het vaste land, waarin de eieren gelegd worden, en waarin ook het mannetje gevonden wordt, dat met den staart het water voortdurend in beweging houdt. Om het nest te bereiken moet de bewaker der eieren zich derhalve uit het water op het land begeven.

Ceratodus oefent geen »Brutpflege» uit.

Evenals aan de eieren der *Amphiumidae* en der *Proteidae* ontbreekt ook aan het ei van *Lepidosiren* donker pigment; het grootste deel er van is zalmkleurig, doch de animale pool meeuw-wit door de buitengewoon kleine dooierkorrels, die zich daar bevinden. Gelijk bij *Megalobatrachus* en *Salamandra* bestaat hier dus een kiemveld. De dooierkorrels van de vegetatieve eihelft bereiken niet zoo groote afmetingen als bij den reuzensalamander, bij welken zij tot 35 μ gaan; hier worden zij niet grooter dan 20 μ . Bij verschillende eieren varieeren deze afmetingen echter nog al veel, wat ik bij *Megalobatrachus* niet heb waargenomen.

Coeloomeieren zijn omhuld door een 1 m.M. dik, doorschijnend vlies, gelegde eieren daarentegen door een dunne hoornige kapsel, die waarschijnlijk het, door de bevruchting veranderde, zoo even genoemde vlies is. In één eiklomp vond KERR bovendien om deze kapsel »a coating of jelly, evidently an oviductal secretion and corresponding with that found in Amphibia.» In veel andere gevallen nam hij sporen van een dergelijk geleihulsel waar. Of het uit meer dan één laag bestaat, vernemen wij niet.

In een »rijp» ei van *Lepidosiren* schijnen de dooierkorrels niet, naar gelang van haar grootte, in verschillende lagen gerangschikt te zijn, zooals in het *Megalobatrachus*- en *Salamandra*-ei, maar alle, groote en kleine, ordeloos door elkaar te liggen. Ik deelde reeds mede, dat evenwel grove korrels ontbreken in het kiemveld. In het centrum van deze fijnkorrelige kap, en niet op de grens van fijne en grove korrels (*Salamandra*), ligt het kiemblaasje. Uit de

aanwezigheid daarvan in dit »rijpe» ei mogen wij misschien afleiden, dat het in het coeloom gevonden werd en niet een gelegd ei is geweest; in afgezette eieren van Amphibieën toch wordt nooit meer een kiemblaasje waargenomen, daar bij alle het eerste poollichaampje in het bovenste deel van den oviduct uitgestooten wordt.

De eerste gleuf wordt onder rechte hoeken door de tweede gesneden, met vorming van een breuklijn; de tweede begint, wanneer de eerste den aequator nog niet bereikt heeft. Wanneer de tertiaire gleuven verschijnen, hebben gewoonlijk de beide eerste de vegetatieve pool bereikt, waar dan ook een breuklijn gevormd is; soms echter is tot in het 4^{de} klievingsstadium de tweede tot de animale helft beperkt, zoodat uitwendig de vegetatieve helft slechts in twee blastomeren gedeeld wordt. De tertiaire gleuven ontstaan van een der twee eerste uit, en zijn veelal verticaal gericht; evenwel op een andere wijze als op het *Megalobatrachusei*, waar zij bij verlenging de oudere gleuven bij de vegetatieve pool zouden snijden, hetwelk hier meestal reeds geschiedt op de animale eihelft. Wanneer de gleuven van het derde stadium dus voltooid zijn, worden er vele gevonden, die een latitudinale richting hebben (cf. *Necturus*, *Salamandra*), hoewel in den regel met verticale neigingen.

»On the whole, a third cleavage phase of vertical furrows is especially characteristic of Ganoids; and without talking of »Homology» of the various furrows as some authors have done, the condition in *Lepidosiren* is of interest as pointing to a similar distribution of protoplasm and yolk in the eggs of the Ganoids and of the Dipnoi.»

In de volgende stadiën is alle regelmaat verloren gegaan, zooals ik ook bij *Megalobatrachus* gevonden heb. Bij *Lepidosiren* blijken echter verticale gleuven nooit vrij te eindigen, zooals dat bij *Megalobatrachus* vaak het geval is. In dit opzicht gelijken *Lepidosiren* derhalve meer op »Ganoiden» (*Acipenser* en *Amia*) dan *Megalobatrachus*. De jonge blastulae van beide dieren hebben uitwendig veel overeenkomst, daarentegen is op oudere bij

Lepidosiren de grens tusschen micro- en macromeren, die, wanneer de klievingsholte op haar maximum is, op den aequator ligt, scherper dan bij *Megalobatrachus*, waar nog tot op de jonge gastrula overgangsblastomeren gevonden worden. Op de figuren van KERR is duidelijk te zien, dat na het verschijnen van de blastoporuslippen de klieving van den dooierprop niet verder gaat. Dit is ook bij *Megalobatrachus* zeer duidelijk, pl. VI, fig. XV en XVI.

Hoewel de verschilpunten niet te ontkennen zijn, blijkt uit de coupes veel overeenkomst. Ook bij dezen Dipnoër bezitten de micromeren in het algemeen fijnkorrelig en de overige blastomeren grofkorrelig dooiermateriaal; evenals bij *Megalobatrachus* worden de klievingsvlakken in de vegetatieve eihelft aangeduid door fijnkorrelige septen.

Een verschil tusschen beide soorten komt voor den dag bij vergelijking van KERR's fig. I met mijn fig. 4, pl. X, die beide coupes voorstellen door zeer jonge blastulae. Bij *Lepidosiren* is geen ongedeelde centrale massa aanwezig, bij *Megalobatrachus* wel, hetgeen ook beschreven wordt ten aanzien van *Salamandra*, *Ichthyophis* en *Ceratodus*. KERR noemt het stuk van GROENROOS niet; aangaande de mededeelingen van SEMON over *Ceratodus* (1901) en van de SARASINS over *Ichthyophis* (1887), werpt hij het vermoeden op, dat zij gebaseerd zijn op slecht gefixeerd materiaal.

Tengevolge van langzaam binnendringen van het fixatiemiddel, zouden de plasmawanden der blastomeren gedegenereerd zijn, vóórdat zij gedood werden, en niet meer op de coupes aan het licht treden; de ongedeelde centrale massa zou derhalve een artefact zijn. Misschien worden ook door het snijden de dooierkorrels zoodanig verschoven, dat de grenzen der blastomeren onzichtbaar worden; KERR nam tenminste waar, dat op dunne coupes door *Lepidosiren*-eieren vele der macromeren in samenhang schenen te zijn, terwijl op dikke (hoe dik?) bleek, dat zij volkomen gescheiden waren. Ofschoon toegegeven moet worden, dat sommige afbeeldingen van *Ceratodus* (fig. 10, 12, 13) misschien eenige aanleiding tot

deze veronderstelling geven, daar alle gleuven tot op dezelfde diepte indringen, meen ik toch haar onjuist te moeten achten wat betreft *Megalobatrachus*; dewijl ik geen »dikke» coupes tot mijn beschikking heb, kan ik niet op die wijze een ongedeeld centrum aantonen; dat het bestaat, volgt, dunkt mij, hieruit, dat (pl. VII fig. IV A) de eene gleuf dieper indringt dan de andere, en dat de diepst indringende altijd de oudste is; wij kunnen toch niet aannemen, dat altijd op deze kritieke punten het fixatiemiddel verzuimd heeft zijn plicht te doen! Bovendien gebruikte ik veelal kleurstoffen, die den plasmawand scherp deden uitkomen, zoodat hij tot aan zijn diepste punt tusschen de dooierkorrels te vervolgen is; van een overdekking der korrels bij het snijden kan dus in deze gevallen geen sprake zijn; desnoods wel in zoodanige waarin alaunkarmijn gebruikt werd, zooals GROENROOS altijd gedaan heeft. Of KERR een dergelijken wand gezien heeft, is uit zijn tekst niet duidelijk.

Op de beide genoemde figuren verkeeren de klievingsholten in gelijken toestand: wij zien een doolhof van communiceerende gangen en spleten; een dezer intercellulaire holten wordt grooter en is het begin van de latere klievingsholte. Bij mijn ei ligt zij iets asymmetrisch ten opzichte van de hoofdas, maar overigens bestaat er de grootste overeenkomst tusschen haar en fig. 2 van KERR, die een ouder ei dan fig. 1 voorstelt.

De kernen der micromeren liggen als bij *Megalobatrachus* in dooiervrije kernhoven; in haar vorm schijnt niets abnormaals voor te komen, want er wordt geen gewag gemaakt van knolvormige, gelapte of multiple kernen; wel van het verschil in grootte, naar mate zij zich in micro- of in macromeren bevinden. Het dak van de klievingsholte is ten slotte over zijn geheele lengte twee cellen dik; het behoudt die dikte, zoolang zij bestaat.

Van de eerste ontwikkeling van het ei van *Protopterus* weten wij zeer weinig. BUDGETT (1901) deelt mede, dat het ei 3,5—4 mM. in middellijn is, dat de animale pool een rose en de vegetatieve eihelft een lichtgroene kleur heeft. Het jongste ei, dat

gevonden werd, verkeert in een jong blastulastadium; BUDGETT zegt: »Comparing . . . with the corresponding stage in *Lepidosiren*, it is noteworthy that the egg is here divided into segments, which are more distinct from one another, the outer surfaces being rounder and not assuming the same curvature as the egg-capsule. In this the egg of *Protopterus* approaches the conditions of *Ceratodus*». 't Is onnoodig er den nadruk op te leggen, dat wij juist op dit punt een verschil met het *Megalobatrachus*-ei hebben opgemerkt; er komt nog bij, dat volgens BUDGETT's afbeelding van de jonge *Protopterus*-blastula geen overgangsblastomeren voorkomen, maar micro- en macromeren onmiddellijk aan elkaar grenzen, zooals bij vele der dooierarme Urodelen-eieren gevonden wordt. Over de verschillen tusschen de *Protopterus*-en de *Lepidosiren*-ontogenie schrijft BUDGETT: »Many of the differences noted in the external development of the two forms may, I think, be correlated with the presence in *Lepidosiren* of rather more food-yolk.» Of dit als primitief te beschouwen is of niet, deelt hij niet mee.

BUDGETT's materiaal is door KERR nader onderzocht en beschreven in het meergenoemde stuk van den laatste over *Lepidosiren*. Ik ontleen daaraan het volgende. In overeenstemming met de kleinere afmetingen zijn de dooierkorrels slechts 0,015 bij 0,010 m.M.; haar vorm is »denticular or fusiform» en dus zeer verschillend van dien, welken wij tot nog toe gevonden hebben.

De overige verschillen worden door KERR aldus samengevat: »The blastula of *Protopterus* differs from that of *Lepidosiren* in the relatively greater depth and volume of the segmentation cavity, and in the greater relative extent of the micromeric region of the egg. The roof of the segmentation cavity is also thicker.» Het *Protopterus*-materiaal is derhalve te beperkt geweest om uit de beschrijving er van een nauwkeurige vergelijking met de klieving van *Megalobatrachus* te maken.

Door de onderzoekingen van SEMON (1893 en 1901) is het klievingsproces van *Ceratodus* bekend geworden. In tegenstelling

met de eieren der beide andere Dipnoi bezit dit ei pigment, en wel zwartachtiggrijs op de animale eihelft, terwijl de vegetatieve lichter grijs »mit einem Stich ins Grünliche" (cf. *Protopterus*) is.

Van af het verschijnen van de eerste gleuf tot aan het einde van de gastrulatie is het ei lensvormig, 3 mM. lang en 2,7 mM. breed.

SEMON (1893) begint met de mededeeling, dat de klieving totaal en inaequaal is, en in alle belangrijke punten overeenkomt met die der Amphibieën; wij lezen echter op dezelfde bladzijde, dat de tertiaire gleuven verticaal gericht zijn, en het ei in 8 ongeveer even groote blastomeren verdeelen. Iets dergelijks was, voor zoo-
ver ik weet, toen ter tijde nog van geen *Amphibium* bekend, terwijl thans onder de Amphibieën *Megalobatrachus* de eenige is, die zich eenigermate op deze wijze klieft. In de meeste gevallen schijnen bij *Ceratodus* alle gleuven snel tot de vegetatieve pool voort te dringen, doch het kan voorkomen, dat een klein deel van de vegetatieve helft tot in het vierde klievingsstadium nog niet doorsneden is.

De vierde gleuven zijn de eerste latitudinale, waardoor 8 micromeren van 8 macromeren gescheiden worden; dikwijls zijn de twee volgende klievingen nog regelmatig, en dan in haar geheel latitudinaal gericht, maar na de 6^{de} klieving houdt de regelmaat op.

Bezien wij de afbeeldingen op plaat I, dan verwonderen wij er ons met GROENROOS over, dat SEMON kan schrijven: »Jeder Embryolog, dem man die Tafel I vorlegen würde, würde wohl unbedenklich erklären, dass hier die ersten Entwicklungsvorgänge eines Amphibiums dargestellt seien. Es handelt sich dabei um eine Uebereinstimmung nicht allein in den Grundzügen, sondern auch um eine ganz auffallende Aehnlichkeit aller Formverhältnisse." Hiervan neme men eens de proef, door aan een embryoloog SEMON's figuren 5, 6 en 7 voor te leggen; zoo wijd gapende gleuven (fig. 5^o en 5^s) en sterk uitpuilende blastomeren (fig. 7^o) zijn bij geen *Amphibium* waargenomen ¹⁾. In het laatste opzicht

1) Mij lijkt het niet onmogelijk, dat de eieren die aan SEMON's figuren ten grondslag

stemt dit ei, zooals GROENROOS opmerkte, nog het meest overeen met de eieren van Triton en ook met die van Protopterus, hoewel bij Ceratodus de grootte der blastomeren zeer geleidelijk van de animale pool naar de vegetatieve afneemt. Evenals bij Megalobatrachus zijn er dus vele overgangsblastomeren. Niet-tegenstaande de vele verschillen in het uitwendige is er een groote overeenkomst tusschen deze eieren op dit punt, dat de tertiaire gleuven steeds verticaal zijn en nooit neiging vertoonen een latitudinaal verloop te nemen; terwijl echter bij Ceratodus alle vierde gleuven latitudinaal gericht zijn, komen bij Megalobatrachus op dit stadium nog verticale voor (tekstfig. 3).

In het onderzoek van 1901 vinden wij nog meer punten van overeenkomst. O. a. wordt het gelegde Ceratodus-ei steeds door eenige vliezen omringd. Het eerste is het zeer dunne ($1\ \mu$) dooier-vlies, waarvan het oppervlak in elk klievingsstadium overeenkomt met het oppervlakterelief van het ei. Ik heb het ook bij Megalobatrachus gevonden. Het ei van den laatste wordt vervolgens door het chorion omsloten, waarop de vochkamer volgt; het eerste ontbreekt geheel bij Ceratodus; een zeer kleine vochkamer is waarschijnlijk gedurende het leven aanwezig; maar doordat zij bij geconserveerde eieren altijd inééngevalLEN is, volgt op het dooiervlies terstond het binnenste geleihulsel ($20\ \mu$). Dit heeft op coupes een eigenaardige blazige structuur en is duidelijk tegen de beide begrenzendende lagen afgezet. De binnenste contour is scherp, maar de grens aan de buitenste geleilaag zeer onregelmatig. Deze laatste (0,6 m.M.) bestaat uit drie zonen, waarschijnlijk slechts differentiaties van één laag. 't Is te betreuren, dat aan de beschrijving geen afbeelding is toegevoegd. Misschien zouden dan punten van overeenkomst met de hulsels van Megalobatrachus duidelijk aan den dag komen. De buitenste laag a van mijn

lagen, eenigszins ongunstig geconserveerd waren, of dat zijn afbeeldingen eenigszins misteekend zijn. Wij vragen ons bv. tevergeefs af, hoe zich de tweede gleuf in fig. 5° gedraagt en hoe de gleuven van fig. 6° op de animale pool samenhangen. Ook de bouw der eieren in het 4de klievingsstadium is uit de afbeeldingen niet duidelijk; van fig. 7° krijgt men den indruk, dat de micromeren geheel boven de macromeren liggen, maar fig. 7^s laat zien, dat zij door de laatste dakpansgewijze bedekt worden.

beschrijving ontbreekt hier, want SEMON zegt uitdrukkelijk: (daar de eieren niet vastgekleefd worden) „so fehlt ihnen auch eine couche agglutinante ou adhésive, die bei vielen Amphibieneiern als äusserste Eihülle eine so wichtige Rolle spielt”.

Op coupes door gelegde eieren blijken de dooierkorrels een ronden vorm te bezitten (wat bedoelt SEMON met de dubbele contouren op zijn fig. 3 en 7, pl. XXX?); haar grootte varieert van 4 tot 24 μ . Merkwaardig is, dat, evenals bij enkele Amphibieën, zij eenigermate in lagen gerangschikt zijn en wel zoo, dat de grootste en losliggende een eenigszins excentrisch naar de vegetatieve pool verschoven ruimte innemen, die door kleinere korrels omringd wordt. De dooierdifferentiatie is derhalve niet zoo ver ontwikkeld als bij *Megalobatrachus*, maar een soort van kiemveld (*Megalobatrachus*, *Salamandra*, *Lepidosiren*) schijnt geheel te ontbreken.

Deze excentrische, grofkorrelige dooierbol bemoeilijkt het doorsnijden der gleuven uitermate; meestal tot in het zevende klievingsstadium blijft deze ongedeelde massa bestaan, maar dan zijn de grove korrels in kleinere uiteengevallen, en hebben de gleuven deze massa doorsneden. Op deze wijze staat het *Ceratodus*-ei tusschen telo- en centrolecithale eieren in. De kritiek, die KERR hierop geeft, besprak ik boven reeds.

In het 3^{de} klievingsstadium van *Ceratodus* hangen gewoonlijk de acht blastomeren in hun centrale deelen samen; bij *Megalobatrachus* is de vegetatieve eihelft uitwendig niet in acht, maar slechts in twee deelen gedeeld.

De klievingsholte verschijnt bij dezen Dipnoër eerst in het vierde deelstadium, terwijl zij in het voorgaande reeds bij den reuzensalamander gevonden wordt. Ook bij *Ceratodus* liggen in deze jonge stadiën de kernen in dooiervrije kernhoven. Ten slotte zij nog vermeld, dat het dak van de klievingsholte van den beginne af eenlagig blijft.

Reeds eenige malen werd boven op het verschijnsel gewezen, dat de tertiaire gleuven van de eieren der »Ganoiden” alle verticaal

gericht zijn, en derhalve tusschen hun klieving en die van het *Megalobatrachus*-ei eenige overeenkomst bestaat. Overigens zijn er tusschen de wijze van klieven bij die »Ganoiden» onderling zoodanige verschillen, dat het noodzakelijk is ze afzonderlijk te bespreken.

Zeer veel overeenkomst bezitten de zich klievende eieren van *Acipenser* met die van *Megalobatrachus*. Reeds de eerste onderzoekers, KOWALEWSKY, OWSJAKNIKOW en WAGNER (1869) gewagen van de groote gelijkenis, die er bestaat tusschen de klieving der steuren en die der Batrachia; of echter bij hun object alle derde gleuven verticaal gericht zijn, is uit de beschrijving niet duidelijk. Nauwkeuriger mededeelingen geeft SALENSKY (1881) aangaande *Acipenser ruthenus*; volgens hem wordt de geheele peripherie van het ei ingenomen door het protoleucyte, dat op de animale pool een verdikking, »germe», kiem vormt; het gaat geleidelijk over in het deutoleucyte van het ei-centrum. Vermoedelijk is deze buitenste protoleucytelaag een dergelijke als de periphere zone van het *Megalobatrachusei*.

De eerste klievingsprocessen worden geheel op de kiem afgespeeld; eerst, wanneer 8 verticale gleuven ontstaan zijn, verschijnen de latitudinale, maar langen tijd ontbreken op de vegetatieve eihelft de laatste geheel. Ook duurt het vrij lang, voordat de vegetatieve pool door de eerste gleuven bereikt wordt, zoodat de animale reeds geheel gekliefd kan zijn, eer aan de vegetatieve alle blastomeren zijn gescheiden. Ook uit SALENSKY's afbeeldingen blijkt de overeenkomst met de klieving van *Megalobatrachus*, hoewel nevens de andere nog dit duidelijke verschil gevonden wordt in de uitwendige gleuven, dat deze bij *Acipenser ruthenus* wijd en gapend zijn; hetzelfde is het geval bij *Acipenser sturio*, onderzocht door DEAN (1895), zoodat in dit opzicht *Acipenser* meer met de Tritonen overeenkomt. DEAN heeft opgemerkt, dat bij *Acipenser sturio* de tertiaire gleuven soms schuin of latitudinaal gericht zijn; daar echter 50% zich op dezelfde wijze klieft als het *Lepidosteus*-ei, d. w. z. de derde gleuven verticaal, spreekt DEAN de meening uit, dat het laatste de normale wijze van klie-

ven zou zijn. Wjl dit verschijnsel bij *Acipenser ruthenus* niet schijnt voor te komen, kunnen wij hierin iets dergelijks zien, als wij bij de Urodelen opmerkten, nl. dat de richting der tertiaire gleuven zeer variabel wordt bij het kleiner worden der eieren in eenzelfde groep van dieren, waarin het karakter van den dooier hetzelfde blijft. Ofschoon de eieren der beide soorten gelijke afmetingen hebben (2 m.M.), bereikt *A. ruthenus* hoogstens een lengte van een meter, *A. sturio* daarentegen een van 6 M..

De vierde gleuven zijn bij *A. ruthenus* latitudinaal ¹⁾ en bij *A. sturio* verticaal; men zal zich herinneren, dat het eenige ei van dit stadium, dat ik van *Megalobatrachus* kon onderzoeken, in zekeren zin tusschen deze beide instaat, daar 6 der vierde gleuven latitudinaal en 2 verticaal gericht zijn.

Gedurende de verdere ontwikkeling ontstaan in het steuren-ei in de vegetatieve helft zeer groote veelkernige blastomeren; eerst zeer laat (in de jonge gastrula) schijnen alle blastomeren van elkaar gescheiden te worden.

Uit het bovenstaande zal voldoende duidelijk geworden zijn, dat de dooier der steureneieren veel meer weerstand biedt aan de klieving, dan bij het Amphibieën-ei het geval is.

Nog meer neiging tot het meroblastische type vertoont het ei van *Amia* (3 bij 2,5 m.M.), maar de klieving er van is nog een totale. De vegetatieve eihelft wordt nl. niet meer door latitudinale, doch alleen door verticale gleuven doorsneden (WHITMAN en EYLESHEIMER, 1897, SOBOTTA 1896), zoodat in het late blastulastadium een veellagige schijf van kleine micromeren op weinige reusachtige celpyramiden rust. De vergelijking van de structuur van de vegetatieve eihelft met die van een sinaasappel, die door enkele onderzoekers gemaakt is, is zeer juist.

De dooier van dit ei is niet gedifferentieerd, maar de korrels ontbreken in de »calotte» (FÜLLEBORN, 1894), die zich aan de

1) DEAN meent echter uit SALENSKY's beschrijving te mogen opmaken, dat in de normale gevallen ook bij *A. ruthenus* de vierde gleuven verticaal zullen loopen.

animale pool bevindt; deze calotte is aan den eenen kant dikker dan aan de andere, zoodat in dit ei reeds vóór de bevruchting eenige orientatie bestaat; ook ligt het kiemblaasje, dat juist op de grens van calotte en dooier gevonden wordt, eenigszins excentrisch (WHITMAN en EYCLESHEIMER).

De tertiaire gleuven zijn, met zeer enkele uitzonderingen, verticaal gericht, terwijl de vierde latitudinaal loopen en dicht bij de animale pool liggen. Eenige daarvan krijgen evenwel soms verticale neigingen, zooals wij ook bij *Megalobatrachus* waarnamen. Door haar wordt bij *Amia* in de meeste gevallen een vrij zuiver ovaal gevormd. Daar de klieving zeer lang tot de animale pool beperkt blijft en in de vegetatieve eihelft slechts verticale gleuven ontstaan, is er zeer weinig overeenkomst met het *Megalobatrachusei*.

Nog korter kan ik zijn over de klieving van het ei van *Lepidosteus*, daar dit volkomen meroblastisch is. Het heeft lang geduurd, eer dit beslist was.

BALFOUR en PARKER (1881), de eerste onderzoekers, berichten, dat de klieving totaal, maar zeer inaequaal is, en de vegetatieve helft slechts zeer langzaam in blastomeren gedeeld wordt. Later zouden de cellen in dit deel van het ei tot een ongekliefde dooiermassa versmelten.

Ook BEARD (1889) noemt het ei holoblastisch, maar DEAN (1895) ontdekt dat de klieving een partieele is; hij wordt hierover door SOBOTTA (1896) gecritiseerd, maar zijn waarnemingen worden in 1899 door EYCLESHEIMER bevestigd. Door den laatste werd gevonden, dat de eerste gleuf den aequator niet overschrijdt. De eenige overeenkomst met het *Megalobatrachus*-ei bestaat derhalve slechts hierin, dat op beide eieren de tertiaire gleuven verticaal gericht zijn; de vierde loopen bij *Megalobatrachus* meerendeels latitudinaal, doch bij *Lepidosteus* zijn ook zij verticaal, zoodat de klieving van de laatste tot dit punt evenzoo verlopen is als bij het *Teleostier*-ei.

Ik kom ten slotte tot de eieren der *Cyclostomen*. Die van de Myxinoiden zijn zeer dooierrijk en meroblastisch, zoodat zij hier buiten beschouwing kunnen gelaten worden, te meer, daar de mededeelingen er over tot nog toe schaarsch en weinig uitvoerig zijn. Die der Petromyzonten daarentegen zijn nog volkomen holoblastisch; bij *Petromyzon Planeri* (M. SCHULTZE, 1856) is de klieving minder inaequaal dan bij *Rana*.

Volgens BOEHM is de dooier niet overal even regelmatig door het ei verspreid; aan de peripherie ligt een alveolare dooierrijke laag, die aan de animale pool in het, van den dooier scherp afgegrensde, poolplasma overgaat. Aan deze periphere laag grenst de dooier, waarvan de korrels in het centrum losser gerangschikt zijn dan aan de buitenkanten. Bij ovariaaleieren ligt het kiemblasje tusschen poolplasma en dooier, doch in gelegde eieren is de kern geheel binnen den dooier gelegen. *Petromyzon* is dus tot nog toe een der weinige dieren, waarvan bekend is, dat de dooier zijner holoblastische eieren in lagen is gedifferentieerd. Alle onderzoekers, die *Petromyzon Planeri* en *P. fluviatilis* onderzocht hebben, zijn het er over eens, dat de klieving hunner eieren uiterst regelmatig is; de tertiaire gleuven zijn altijd latitudinaal, bijna aequatoriaal zelfs, zoodat tusschen deze Petromyzonten en *Megalobatrachus* hierin geen overeenkomst bestaat. Wel is dat het geval met de eieren van *Petromyzon marinus* en die van den reuzensalamander. De eerste zijn onderzocht door MC CLURE (1893), die meedeelt, dat hier de tertiaire gleuven zonder één uitzondering verticaal gericht zijn, zelfs volkomen meridionaal, wanneer de eieren zich ontwikkelen in water van 22° C. Is de temperatuur van het water lager, dan loopden de verticale derde gleuven evenwijdig aan een der beide eerste klievingsvlakken. De afbeeldingen I en II van MC CLURE geven zeer regelmatig gekleefde eieren weer, die men zou kunnen verwisselen met schema's van mijn figuren IV A en V A, pl. V. Ongelukkigerwijze vernemen wij niet veel meer dan dat de vierde gleuven alle latitudinaal zijn en dicht bij de animale pool liggen, zoodat acht kleine micromeren afgesnoerd worden; noch of de gleuven snel of langzaam naar de

vegetatieve pool toe voortdringen, noch op welke wijze de klievingen na de vierde geschieden, wordt medegedeeld; ook geeft Mc CLURE niet de afmetingen op van deze eieren, zoodat wij alleen uit den loop der tertiaire gleuven misschien mogen besluiten, dat het grooter en dooierrijker is dan het ei der vorige Petromyzonten. Misschien is ook bij deze soort de dooier in eenige lagen gedifferentieerd en zullen door een nader, uitgebreider onderzoek meer punten van overeenkomst met de ontwikkelingsgeschiedenis van het *Megalobatrachus*-ei gevonden worden.

UITKOMSTEN.

1. Het eisnoer is rozenkransvormig; de strengen bestaan, macroscopisch beschouwd, uit twee lagen: een buitenste geleihulsel en een inwendige laag, samengesteld uit twee spiraalvormig opgerolde strooken, een van compacten en een van meer lossen bouw; de eikapsels bezitten bovendien centraalwaarts van deze laag nog twee lagen, en bovendien een ruime vochkamer.
2. Het ei is rond, en is 7 mM. in diameter; de kleur is aan de animale pool wit en gaat naar de vegetatieve in geel over.
3. De dooierkorrels van het onbevuchte ei zijn gerangschikt in een zeer fijnkorrelig kiemveld, dat in het midden het dikst is; een periphere zone; een pericentrale zone en een centrale massa.
4. De klieving is totaal en zeer inaequaal.
5. De eerste, tweede en derde gleuven zijn alle verticaal; geen er van klieft het ei volkomen, zoodat de 8 blastomeren in het 3^{de} klievingsstadium nog in samenhang zijn.
6. De excentrische klievingsholte ligt in het derde klievingsstadium terstond onder het kiemveld in den groven dooier.
7. Van de 8 gleuven van het vierde klievingsstadium zijn 6 latitudinaal en 2 vertikaal, zoodat uitwendig 6 micromeren gevormd zijn.
8. In eieren, oud 88 uur, kunnen wij micromeren, overgangsblastomeren en macromeren onderscheiden; er is nog een ongedeelde centrale dooiermassa; de klievingsholte bestaat uit een doolhof van intercellulaire gangen en spleten.
9. In eieren van 112 uur hangen geen macromeren, tenzij zij in deeling verkeerden, meer met elkander samen; er is één onver-

deelde klievingsholte, waarvan het dak gevormd wordt door micromeren, gerangschikt in 3–5 lagen; de kernen zijn bijna alle knolvormig, gelobt of veelvoudig.

10. In het stadium van 136 uur wordt het dak van de klievingsholte over een afstand van 0,5 mM. door één laag van micromeren samengesteld.
11. Dit eenlagige gebied heeft zich in een ei van 160 uur aanmerkelijk uitgebreid. Een der wanden van de klievingsholte is dikker dan de andere.

Deze onderzoeken werden onder leiding van Prof. C. PH. SLUITER in het Zoölogisch Laboratorium van de Amsterdamsche Universiteit verricht.

LITTERATUUR.

- Balfour and Parker.** On the Structure and Development of Lepidosteus.
Proceedings of the Royal Society of London. 33. 1881.
- Bambeke, Ch. van.** Nouvelles Recherches sur l'Embryologie des Batraciens.
Archives de Biologie. I, 1. 1880.
- Beard, J.** On the early Development of Lepidosteus osseus.
Proceedings of the Royal Society of London. 46. 1889.
- *Bellonci, J.** La caryocinèse dans la Segmentation de l'Oeuf de l'Axolotl.
Archives Italiennes de Biologie. 1884.
- Benecke, B.** Ueber die Entwicklung des Erdsalamanders.
Zoologischer Anzeiger. 1880.
- Brachet, A.** Recherches sur l'Ontogenèse des Amphibiens urodèles et anoures (Siredon pisciformis, Rana temporaria).
Archives de Biologie. 19. 1902.
- Brauer, A.** Beiträge zur Kenntniss der Gymnophionen.
Zoologische Jahrbücher. Anat. Abth. X. 1897.
- Brauer, A.** Beiträge zur Kenntniss der Entwicklung und Anatomie der Gymnophionen.
Zoologische Jahrbücher. Anat. Abth. XII. 1899.
- Broili, J. F.** Zur Fortpflanzung des Japanischen Riesensalamanders (Megalobatrachus maximus).
Natur und Haus. 12. 1903.
- Budgett, J. S.** Notes on the Batrachians of the Paraguyan Chaco with observations upon their breeding habits and development, especially with regard to *Phyllomedusa hypochondrialis*.
Quarterly Journal of Microscopical Science. N. S. Vol. XLII. 1899.
- Budgett, J. S.** On the Breeding habits of some West-African Fishes, with an account of the External Features in Development of *Protopterus annectens* and a Description of the larva of *Polypterus lapradei*.
Transactions of the Zoological Society. XVI. 1901.
- Cope, E. D.** The Batrachia of North-America.
Bulletin United States National Museum. N° 34. Washington. 1889.
- Dean, B.** The early Development of Garpike and Sturgeon.
Journal of Morphology XI. 1895.
- Dean, B.** The early Development of *Amia*.
Quarterly Journal of Microscopical Science. 38. 1896.

*) De met een * gemerkte stukken heb ik niet ter lezing kunnen krijgen.

- Dean, B. Remimiscence of Holoblastic Cleavage in the Egg of the Shark, *Heterodontus (Cestracion) japonicus* Macleay.
Annotationes Zoologicae Japonenses. Tokyo. Vol. 4. 1901.
- Dean, B. On the early development of Ganoids.
Congrès international. Zool. 1896.
- *Ebner, V. von. Die äussere Furchung des Tritoneies.
Festschrift für Al. Rollett. Jena. 1893.
- Eyclesheimer, A. C. The early development of Amblystoma, with observations on some other Vertebrates.
Journal of Morphology X. 1895.
- Eyclesheimer, A. C. The Cleavage of the Egg of *Lepidosteus osseus*.
Anatomischer Anzeiger. 16. 1899.
- Eyclesheimer, A. C. The formation of the Embryo of *Necturus*, with remarks on the theory of concrescence.
Anatomischer Anzeiger. 22. 1902.
- Eyclesheimer, A. C. Bilateral Symmetry in the Egg of *Necturus*.
Anatomischer Anzeiger. 25. 1904.
- Fick, R. Reifung und Befruchtung des Axolotleies.
Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie. 56. 1893.
- Fülleborn, F. Bericht über eine, zur Untersuchung der Entwicklung von *Amia*, *Lepidosteus* und *Necturus* unternommene Reise nach Nord-Amerika.
Sitzungsberichte der Academie der Wissenschaften zu Berlin XL. 1894.
- Gasco, F. Intorno alla Storia della sviluppo del Tritone alpestre (*Triton alpestris* Laur.).
Annali del Museo Civico di Storia Naturale di Genova. 16. 1880.
- Gasco, F. Les Amours des Axolotls.
Zoologischer Anzeiger IV. 1881.
- Gasser. Zur Entwicklung von *Alytes obstetricans*.
Sitzungsberichte der Marburger Naturforschenden Gesellschaft. 1882.
- Goeldi, E. A. Ueber die Entwicklung von *Siphonops annulatus*.
Zoologische Jahrbücher. Syst. XII. 1899.
- *Groenroos, H. Ueber die Eifurchung bei den Tritonen.
Helsingfors. 1890.
- Groenroos, H. Zur Entwicklungsgeschichte des Erdsalamanders. I.
Anatomische Hefte. I. Abth. 18. Heft. 1895.
- Haecker, V. Ueber das Schicksal der elterlichen und grosselterlichen Kernanteile.
Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaft. N. F. 30. 1902.
- Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungsgeschichte der Wirbeltieren, herausgegeben von O. Hertwig. 1903 —.
- Hay, O. P. Observations on *Amphiuma* and its Young.
American Naturalist. 22. 1888.
- Hertwig, O. Beiträge zur Kenntniss der Bildung, Befruchtung und Teilung des tierischen Eies.
Morphologisches Jahrbuch. I. 1875. III. 1877.
- Ikeda, S. Contributions to the Embryology of Amphibia: The Mode of Blastopore-Closure and the Position of the Embryonic Body.
Journal of the College of Science, Imperial University Tokyo. Vol. XVII. Part. 2. 1902.

- Ishikawa, C.** Ueber der Riesensalamander Japan's.
Mittheilungen der Deutschen Gesellschaft für Natur- und Völkerkunde Ostasien's. 9. Tokio. 1902.
- Ishikawa, C.** Beiträge zur Kenntniss des Riesen-Salamanders, (*Megalobatrachus maximus* Schlegel).
Proceedings of the Department of Natural History, Tokyo Imperial Museum. Vol. 1. 1904.
- Isle, A. de l'.** Mémoire sur les moeurs et l'accouchement de l'*Alytes obstetricans*.
Annales des Sciences naturelles. Ser. 6. T. 3. 1876.
- Jordan, E. O.** The Habits and Development of the Newt.
Journal of Morphology. VIII. 1893.
- Jordan, E. O.** and **Eyclesheimer, A. C.** The Cleavage of the Amphibian Ovum.
Anatomischer Anzeiger. 8. 1892.
- Jordan, E. O.** and **Eyclesheimer, A. C.** On the Cleavage of the Amphibian Ova.
Journal of Morphology. IX. 1894.
- Kampen, P. N. van.** Eieren en spermien van *Megalobatrachus maximus*. Schl.
Tijdschrift der Ned. Dierk. Ver. VIII, pp. XLIX. 1903.
- Kerbert, C.** Eieren van *Megalobatrachus maximus*. Schl.
Tijdschrift der Ned. Dierk. Ver. VIII. pp. XXVIII—XXIX en pp. XLVIII—XIX. 1903.
- Kerbert, C.** Zur Fortpflanzung von *Megalobatrachus maximus* Schlegel.
Zoologischer Anzeiger. 27. 1904.
- Kerr, J. G.** The External Features in the Development of *Lepidosiren paradoxa*. Fitz.
Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Vol. 192. 1900.
- Kerr, J. G.** The Development of *Lepidosiren paradoxa*. Part II. With a note upon the Corresponding Stages in the Development of *Protopterus annectens*.
Quarterly Journal of Microsc. Science. N. S. 45. 1902.
- Kowalewsky, A., Owsjannikow, Th., und Wagner, N.** Die Entwicklungsgeschichte der Störe.
Mémoires de l'Académie impériale des Sciences de St. Pétersbourg. T. 14. 1870.
- Kupffer, C.** Die Entstehung der Allantois und der Gastrula der Wirbeltiere.
Zoologischer Anzeiger. II. 1879.
- Lebrun, H.** Recherches sur l'Appareil genital femelle de quelques Batraciens indigènes.
La Cellule. VII. 1891.
- Méhely, Lajos v.** A békák ivadék gondozása. (Die Brutpflege der Frösche).
Termésetud. Közl. 35. Budapest. 1903. 1).
- Neumann, E.** und **Grunau, H.** Die Drüsen der Froscheileiter.
Archiv. für microsc. Anat. XI. 1875.

1) Naar referaat in *Zoologisches Zentralblatt.* 11. 1904.

- ***Peltsam, E. D.** Beobachtungen über die Segmentation der Sterleteies.
Mittheilungen der Kaiserl. Gesellsch. für Freunde der Nat. an der Moskauer Universität. 1. 1887.
- Rabl, C.** Ueber die Bildung des Mesoderms.
Anatomischer Anzeiger. 3. 1888.
- Reese, A. M.** The sexual Elements of the Giant Salamander, *Cryptobranchus alleghaniensis*.
Biological Bulletin. 6. 1904.
- Ritter, W. E. and Miller, L.** A Contribution to the Life History of *Autodax lugubris* Hallow, a Californian Salamander.
American Naturalist. 33. 1899.
- ***Rusconi, M.** Histoire Naturelle, développement et metamorphose de la Salamandre terrestre. *Pavie* 1854.
- Salensky, W.** Embryologie der Ganciden.
Zoologischer Anzeiger. 1. 1878.
- Salensky, W.** Recherches sur le Développement du Sterlet (*Acipenser ruthenus*). *Archives de Biologie.* 2. 1881.
- Sarasin, P. und F.** Ueber die Entwicklungsgeschichte van *Epicrion glutinosum*.
Arb. Zool. Zoot. Instit. zu Würzburg. 7. 1885.
- Sarasin, P. und F.** Ergebnisse naturwissenschaftlicher Forschungen auf Ceylon. II. Zu Entwicklungsgeschichte und Anatomie der ceylonesischen Blindwühle, *Ichthyophis glutinosus*. 1887 – 1893.
- Sasaki, C.** Some Notes of the Giant Salamander of Japan.
Journ. of the Coll. of Science, Imper. University, Japan. 1, III. 1887.
- Schultze, M. S.** Die Entwicklungsgeschichte van *Petromyzon Planeri*.
Natuurk. Verh. v. d. Holl. Maatsch. der Wet. te Haarlem. 2de Verzam. Elfde deel. 1856.
- Schultze, O.** Ueber die Karyokinese in den Ersten Zellen (Furchungskugeln) des Axolotl.
Sitzungsberichte der Würzburger Phys. med. Gesellsch. 1887.
- Semon, R.** Zoologische Forschungsreisen in Australien und dem malayischen Archipel. I. *Ceratodus*. 1893, 1901.
- Sobotta.** Die Gastrulation von *Amia calva*.
Verhandl. Anat. Gesellsch. X. 1896.
- Sobotta.** Die Furchung des Wirbeltiereies.
Ergebnisse der Anat. und Entwicklungsgeschichte. 6. 1896.
- Stricht, O. van der.** Contribution à l'étude de la Sphère attractive.
Bull. Ac. Roy. Belg. 3. Série. T. 23. 1892.
- Stüve, R.** Beitrag zur Kenntniss des Baues der Eileiterdrüsen bei den Amphibien. *Arch. für microsc. Anat.* 34. 1889.
- Virchow, H.** Embryologische und angiologische Erfahrungen über nord-amerikanische Wirbeltiere. *Sitzungsberr. Gesellsch. nat. Freund. Berlin.* 1894.
- Virchow, H.** Ueber Furchungsbilder von *Amia calva*. *Sitzber. Gesellsch. Naturf. Freund. Berlin.* 1896.
- Whitman and Eyclesheimer.** The egg of *Amia* and its Cleavage.
Journal of Morphology. XII. 1896.

Wilder, H. H. *Desmognathus fusca* and *Spelerpes bilineatus*.
American Naturalist. 33. 1899.

Ziegler, H. E. Die neuere Forschungen in der Embryologie der Ganoiden.
Zoologisches Zentralblatt. 7. 1900.

FIGURENVERKLARING.

Plaat I, II en III stellen deelen van het synoion, gelegd in 1904, voor op natuurlijke grootte; de autotypieën zijn vervaardigd van ongeretoucheerde photographieën.

PLAAT I.

Kapsels met eieren in levenden toestand gefotografeerd.

PLAAT II.

De photographie werd genomen, nadat de eieren zich reeds 4 weken in formol 4% bevonden hadden. Rechts op de plaat ziet men een stuk van het abnormale deel van het eisnoer met groote kapsels, waaronder veel kleine en leege, en dikke strengen. De ronde witte vlek op het ei in de dubbelkapsel, ongeveer in het midden van de plaat, is niet het kiemveld, doch een verhooging, door de degeneratie op het ei ontstaan.

PLAAT III.

Eveneens kapsels geconserveerd in formol 4%. Voornamelijk stukken van het laatstgelegde deel van het synoion zijn afgebeeld; kleine leege kapseltjes, die tenauwernood een verdikking van de streng veroorzaken. In sommige strengen is zeer duidelijk de schijnbare »as» of het schijnbare »lumen» te zien.

PLAAT IV.

- Fig. 1. Kapsel, terstond na het leggen gefixeerd. Dit is de eenige, waarbij de spiraalrichting van de eene streng tegengesteld is aan die van de andere. De omkeering der spiraallijnen is zichtbaar op de kapsel. De nog kleine vochkamer schemert door; het ei is niet te zien door de ondoorzichtbaarheid der gefixeerde hulsels. X 2.
- Fig. 2. Optische doorsnede door een streng, in welke sommige der laagjes van laag 2 van richting veranderen.
- Fig. 3. Optische doorsnede van een gedeelte van een abnormale streng, waarin schijnbaar een as aanwezig is.
- Fig. 4. Vierdubbele kapsel; aan den rechterkant ligt laag 2 als een wrong op de kapsel, in welken vorm zij blijft door laag 1, die er later om gevormd is.
- Fig. 5. Dwarsdoorsnede door een kapsel. Links van den donkeren rand (laag f) bevindt zich de vochkamer. Aan laag f grenst rechts de fijngestreepte

laag e; aan deze de sponsachtige hoofdmassa van laag 2, waarin zich (op deze afbeelding) 4 der 15—20 toeren van de meer compact gebouwde spiraal bevinden. Oc. 2, obj. D. Abbe's teekenapparaat.

Fig. 6. Dwarsdoorsnede door een abnormale streng; een »as» is niet aanwezig. Bij deze vergrooting (oc. 2, obj. A) zijn sommige der spiraaltoeren zoo dun, dat de spiraal niet overal goed te volgen is. In het midden het onregelmatig kronkelend gedeelte. Geteekend met Abbe's teekenapparaat.

Fig. 7. Het centrum van een coupe door een abnormale streng bij oc. 2, obj. D.; de spiraal is duidelijk; een as is afwezig. Geteekend met Abbe's teekenapparaat.

PLAAT V.

Alle figuren zijn geteekend met Abbe's teekenapparaat. Vergrooting ongeveer 5 X.

Fig. I. Ei A, 40 uur, onbevruucht. De kring op het ei stelt de grens van het kiemveld voor. Fixatie: formol 40%.

Fig. II. Ei B¹, 40 uur. Animale helft. In leven geteekend.

Fig. III. A. Ei B², 40 uur. Animale helft. Formol 40%.

Fig. III. B. Ei B². Vegetatieve helft.

Fig. IV. A. Ei B³, 40 uur. Animale helft. Formol 40%.

Fig. IV. B. Ei B³. Vegetatieve helft.

Fig. V. A. Ei B⁴, 40 uur. Animale helft. Formol 40%.

Fig. V. B. Ei B⁴. Vegetatieve helft.

Fig. VI. A. Ei B⁵, 40 uur. Animale helft. Formol 40%.

Fig. VI. B. Ei B⁵. Vegetatieve helft.

Fig. VII. A. Ei B⁶, 40 uur. Animale helft. Formol 40%.

Fig. VII. B. Ei B⁶. Vegetatieve helft.

Fig. VIII. Ei C, 40 uur. Animale helft. Alkool 70%.

Fig. IX. A. Ei D, 64 uur. Animale helft. Formol 40%.

Fig. IX. B. Ei D. Vegetatieve helft.

Fig. IX. C. Ei D in scheeve stelling.

Fig. IX. D. Ei D. Zijkant.

Fig. IX. E. Ei D. Zijkant.

Fig. X. A. Ei E, 88 uur. Zijkant. Pikrinezwavelzuur.

Fig. X. B. Ei E. Vegetatieve helft.

PLAAT VI.

Alle figuren zijn geteekend met Abbe's teekenapparaat, voor zoover dit te doen was. De micromeren nl. zijn zoo klein geworden, dat zij bij deze vergrooting niet volkomen natuurgetrouw weer te geven zijn; daarom heb ik door de letters *a* en *b* aangegeven, tot op welke hoogte de gleuven met Abbe's camera zijn nageteekend. Daarboven, d. w. z. naar de animale pool toe is iets geschematiseerd. Tengevolge daarvan is echter ongelukkigerwijze de overgang van micromeren in macromeren te plotseling voorgesteld; in werkelijkheid gaan zij geleidelijk in elkaar over en wordt een zone van overgangsblastomeren gevonden.

- Fig. XI. A. Ei F. 88 uur. Zijkant. Pikrinezwavelzuur.
 Fig. XI. B. Ei F in scheeven stand.
 Fig. XI. C. Ei F. Vegetatieve helft.
 Fig. XII. Ei G. 112 uur. Zijkant. Pikrinezwavelzuur.
 Fig. XIII. Ei H. 112 uur. Zijkant. Pikrinezwavelzuur.
 Fig. XIV. A. Ei I. 136 uur. Zijkant. Pikrinezwavelzuur.
 Fig. XIV. B. Ei I. Vegetatieve helft.
 Fig. XV. A. Ei van 160 uur. Zijkant. Pikrinezwavelzuur.
 Fig. XV. B. Ei van 160 uur. Vegetatieve helft.
 Fig. XVI. A. Ei O. 208 uur. Blastoporus naar den beschouwer gekeerd.
 Pikrinezwavelzuur.
 Fig. XVI. B. Ei O. Zijkant.
 Fig. XVI. C. Vegetatieve helft.

PLAAT VII.

Alle figuren zijn geteekend bij Zeiss Oc. 4, obj. a_0 ; tubuslengte 160 mM., Abbe's teekenapparaat; tekenbord op de hoogte van de objecttafel. Daarna werden zij op de helft verkleind.

De grenzen der dooierlagen zijn natuurgetrouw weergegeven; de dooierkorrels daarentegen zijn te groot voorgesteld, wat bij deze vergrooting niet anders mogelijk is.

Fig. 1. Bijna mediane lengtecoupe door ei A. Kiemveld, periphere zone, pericentrale zone, en centrale massa zijn zichtbaar.

Fig. 2 A—F. Horizontale coupes door ei B³.

A. Coupe 220. Drie indringende gleuven, omgeven door fijnkorrelig materiaal van de periphere zone. Binnen de pericentrale zone II, ligt nog een deel van de pericentrale zone I.

B. Coupe 166. Vier gleuven en de vier zones zijn zichtbaar.

C. Coupe 130. α , β , γ en δ hebben de klievingsholte bereikt; ε is alleen bij deze zichtbaar als indeuking in den rechterbovenwand der holte. De grenzen der dooierlagen zijn onduidelijk.

D. Coupe 120. Ook θ is aan de klievingsholte zichtbaar; alleen in quadrant $\alpha \delta$ is de pericentrale zone I aangesneden; in de andere de overgang van de pericentrale zone I, maar het kiemveldmateriaal.

E. Coupe 101. ε is ook aan de peripherie opgetreden (op de figuur door de verkleining niet zichtbaar). Segment $\delta \theta$ is geheel begrensd. Kiemveld is getroffen in $\beta \gamma$ en $\beta \theta$. Het chorion is zichtbaar bij α , β en δ .

F. Coupe 92. De klievingsholte is verdwenen. Alle acht blastomeren zijn gescheiden. Het chorion is zeer duidelijk (links in de fig.).

Fig. 3. A—J. Verticale coupes door ei B⁴.

A. coupe 315. Periphere zone, pericentrale zone I en II.

B. coupe 258. In de pericentrale zone II bevindt zich materiaal van de pericentrale zone I.

C. coupe 230. Pericentrale zone II is zeer onregelmatig gevormd.

D. coupe 215. Klievingsholte, liggende onder het kiemveld in den groven dooier.

E. coupe 197. De animale en vegetatieve deelen van gleuf β staan

op het punt zich te vereenigen; de pericentrale zone II wijkt er voor terug. De centrale massa is zichtbaar.

F. coupe 187.

G. coupe 181. In segment V is de kernhof zichtbaar.

H. coupe 169. Kernhof van segment VII is ook getroffen.

J. coupe 157. Kernhof van segment VI.

Fig. 4. A. Bijna horizontale coupe door de animale eihelft van ei C. De oudste gleuven zijn het diepst binnengedrongen. De dooierverdeeling is weggelaten.

Fig. 4. B. Een dergelijke coupe, doch dicht bij de animale pool, door hetzelfde ei. De kernhoven van de segmenten $\kappa\zeta$ en $\kappa\gamma$ zijn nog verbonden. In de klievingsholte is het onderste deel van segment III zichtbaar. De dooierverdeeling is weggelaten.

PLAAT VIII.

Alle figuren zijn geteekend met Zeiss oc. 2, obj. A., tubuslengte 160 m.M. Abbe's teekenapparaat; teekenbord ter hoogte van de objecttafel; daarna op de helft verkleind. De afmetingen der dooierkorrels zijn te groot voorgesteld, doch haar verhoudingen zoo juist mogelijk weergegeven.

Fig. 1—13. Verticale coupes door de omgeving van de animale pool van ei B⁴. Verklaring in den tekst.

Fig. 1. Coupe 242.

Fig. 2. Coupe 235.

Fig. 3. Coupe 228.

Fig. 4. Coupe 218.

Fig. 5. Coupe 217.

Fig. 6. Coupe 212.

Fig. 7. Coupe 210.

Fig. 8. Coupe 205.

Fig. 9. Coupe 201.

Eig. 10. Coupe 195.

Fig. 11. Coupe 184.

Eig. 12. Coupe 181.

Fig. 13. Coupe 169.

PLAAT IX.

Alle figuren zijn geteekend met Zeiss Oc. 4, obj. a₀; tubuslengte 160 m.M. en teekenapparaat van Abbe; teekenbord op de hoogte van de objecttafel. Daarna werden zij op de helft verkleind. De dooierverdeeling is overal weggelaten en slechts in fig. I zijn de celgrenzen geteekend.

Fig. I. Mediane coupe door ei E. Ruime klievingsholte.

Fig. II. Verticale coupe door ei G. Klievingsholte in twee ruimten verdeeld; het dak van het rechterdeel bestaat uit één laag van overgangsblastomeren.

Fig. III. Verticale coupe door ei G, meer naar het mediane vlak. Eén klievingsholte; de plaats, waarop de vorige coupe dak en bodem verbonden waren, is gekenmerkt door een verdikking, a. Links daarvan bestaat het dak uit micromeren, rechts uit overgangsblastomeren. Sponsachtige bouw van den bodem.

Fig. IV. Ongeveer mediane coupe door ei G. Overgangsblastomeren op den bodem der klievingsholte zijn in deeling.

- Fig. V. Mediane coupe door ei J. Een klein deel van het dak aan de animale pool bestaat uit één laag van micromeren.
- Fig. VI. Coupe vóór het mediane vlak door ei L. Het dak der klievingsholte is zeer dik.
- Fig. VII. Mediane coupe door ei L. Het dak is veel dunner; de klievingsholte is rechts scherper uitlopend dan links, waar zij afgerond is, en dringt daar dieper in; het midden van den bodem vertoont een sponsachtigen bouw.
- Fig. VIII. Coupe achter het mediane vlak door ei L. Het dak is hier dun.

PLAAT X.

Alle figuren zijn geteekend met tubuslengte 160, Abbe's teekenapparaat, teekenbord hoogte objecttafel.

- Fig. 1. Deel van mediane coupe door ei A. Grofkorrelige driehoek in het kiemveld; de top er van bereikt de eiperipherie; de korrels onder aan de tekening behoren tot den overgang van het kiemveld in de pericentrale zone. Het chorion heeft zich van den dooier losgelaten. Zeiss Oc. 2, obj. D; carmalaun.
- Fig. 2. Horizontale coupe door ei B³. Gleuf γ met Zeiss Oc. 2, obj. A. Fijnkorrelig materiaal omgeeft de gleuf en gaat haar voor. De grove korrels behoren tot de pericentrale zone I. Het fijne protoplasma-lijntje, dat van het diepste punt van de gleuf in het ei dringt, is te dik voorgesteld, daar het eerst zichtbaar wordt met Zeiss Oc. 2, obj. D. Carmalaun.
- Fig. 3. Drielappige kern; chromatine in draden. Links ligt in den kleinen kernhof de beschreven donker, homogeen gekleurde korrel (chromatine?). De andere korrels zijn dooierkorrels en veel flauwer getingeerd. Zeiss Oc. 2, obj. F.; azijnzure alaunkarmijn.
- Fig. 4. Mediane coupe door ei F. De klievingsholte wordt gevormd door een door een doolhof van gangen en spleten tusschen de micromeren en overgangsblastomeren. De lichte plekken stellen de kernhoven voor; de dooierkorrels zijn niet geteekend. De gleuven dringen tot op verschillende diepten in. Zeiss, oc. 4, obj. a_o; zure haemalaun.
- Fig. 5. Overgangsblastomeer van ei F.; knolvormige gelobte kern in den kernhof. De plasmawand is alleen boven in de figuur weergegeven. Zeiss, oc. 4, obj. F; zure haemalaun.
- Fig. 6. Verticale coupe door het dak van ei G, (cf. plaat IX, fig. III). Verdikking van het dak der klievingsholte, bestaande uit micromeren; rechts daarvan bestaat het dak uit één laag van overgangsblastomeren, links uit 3—5 van micromeren. Zich deelende overgangsblastomeren op bodem van en in de klievingsholte, Zeiss, oc. 2, obj. A.
- Fig. 7. Coupe door ei G, dichter dan fig. 6 bij het mediane vlak. De verdikking heeft zich naar rechts uitgebreid, zoodat het geheele rechterdeel van het dak verdikt is. Links een deel van het dak, zooals het voor het grootste deel gebouwd is. Zeiss, oc. 2, obj. A.

INHOUD.

	Bladz.
Overzicht der litteratuur	1
Het Synoion	3
Materiaal en Techniek	18
Onbevrucht Ei. Ei A	23
Derde Klievingsstadium. 40 uur	27
Beschrijving van ei B ³	28
Beschrijving van ei B ⁴	35
Vierde Klievingsstadium. 40 uur. Ei C	43
Stadium van 64 uur. Ei D	46
Stadium van 88 uur	48
Beschrijving van ei F	49
Beschrijving van ei E	55
Stadium van 112 uur.	57
Beschrijving van ei G	57
Beschrijving van ei H	60
Stadium van 136 uur. Ei I	62
Stadium van 160 uur.	63
Beschrijving van ei M	63
Beschrijving van ei N	65
Stadium van 208 uur. Ei O	69
Vergelijking	70
Menopoma.	70
Necturus	70
Salamandra	72
Overige Salamandrinae en Amblystomatinae	80
Anura	85
Dipnoi	87
Lepidosiren	88
Protopterus	91
Ceratodus	92
Acipenser	96
Amia	97
Lepidosteus	98
Petromyzon	99

PLAAT I.

PLAAT II.

PLAAT III.

Fig. 7.

Fig. 6.

Fig. 1.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 2.

Fig. 5.

Fig. 7.

Fig. 6.

Fig. I, III-X L. P. DE BUSSY, del., fig. II P. N. VAN KAMPEN, del.

G. LOHOFF. grav.

Lith. J. H. DE BUSSY.

Fig. II.C.

Fig. II.D.

Fig. II.E

Fig. III.B.

Fig. III.C.

Fig. III.F

Fig. III.G.

Fig. IV.A.

Fig. IV.B.

Fig. I.

Fig. II.A.

Fig. II.B.

Fig. II.C.

Fig. II.D.

Fig. II.E.

Fig. II.F.

Fig. III.A.

Fig. III.B.

Fig. III.C.

Fig. III.D.

Fig. III.E.

Fig. III.F.

Fig. III.G.

Fig. III.H.

Fig. III.I.

Fig. IV.A.

Fig. IV.B.

Fig. III.

Fig. IV.

Fig. VII.

Fig. VIII.

Fig. X.

Fig. XI.

Fig. XIII.

Fig. I.

Fig. II.

Fig. III.

Fig. IV.

Fig. V.

Fig. VI.

Fig. VII.

Fig. VIII.

Fig. IX.

Fig. X.

Fig. XI.

Fig. XII.

Fig. XIII.

Fig. I.

Fig. II.

Fig. III.

Fig. IV.

Fig. V.

Fig. VI.

Fig. VII.

Fig. VIII.

Fig. IV. *Fig. VI.* *Fig. VII.*

Fig. I.

Fig. II

Fig. IV.

Fig. III.

Fig. V.

Fig. VI.

Fig. VII.

SMITHSONIAN INSTITUTION LIBRARIES

3 9088 00245995 6

nh rept QL668.C24B98 19

Eerste ontwikkelingsstadieën van Megalob