

D

KATHOLIEKE UNIVERSITEIT TE LEUVEN

FACULTEIT DER WETENSCHAPPEN

DE KEYS-WILLMERCELLEN

EN HUN VERBAND MET DE ZOUTREGELING

BIJ ANGUILLA ANGUILLA L. EN SALMO SALAR L.

Proefschrift ingediend tot het verkrijgen van de graad
van Doctor in de Wetenschappen, afdeling Dierkunde

Maria Jozefina VAN DYCK c.r.s.s.

Promotor : Professor Dr. H. J. KOCH

Juli 1967

KATHOLIEKE UNIVERSITEIT TE LEUVEN

FACULTEIT DER WETENSCHAPPEN

DE KEYS-WILLMERCELLEN

EN HUN VERBAND MET DE ZOUTREGELING

BIJ ANGUILLA ANGUILLA L. EN SALMO SALAR L.

Proefschrift ingediend tot het verkrijgen van de graad
van Doctor in de Wetenschappen, afdeling Dierkunde

Maria Jozefina VAN DYCK c.r.s.s.

Promotor : Professor Dr. H. J. KOCH

Juli 1967

Bij het voorleggen van mijn proefschrift dank ik zeer oprecht de heren professoren van het Zoölogisch Instituut voor mijn vorming in de Biologische Wetenschappen

Speciaal dank ik de heren professoren-juryleden : Professor Dr. G. VANDEBROEK, Professor Dr. J. VAN BOVEN, Professor Dr. J. DEMAL, Dr. M. QUAGHEBEUR, docent.

Op gans bijzondere wijze dank ik mijn Promotor, Professor Dr. H.J. KOCH, voor de leiding, de permanente interesse en de veelvuldige discussie tijdens het uitwerken van het onderwerp dat hij mij heeft willen toevertrouwen en waarbij hij zijn uiterst waardevol materiaal en niet-gepubliceerde resultaten van zijn persoonlijk onderzoek ter beschikking stelde.

Ook dank ik de staf en het personeel van het Laboratorium voor Zoöfysiologie van de Universiteit te Leuven waar dit proefschrift tot stand kwam.

I N H O U D

INLEIDING

p. 4

DEEL I. LITERATUURGEGEVENS EN BESPREKING

Hoofdstuk 1. Structuur en functie van de Keys-Willmercellen (acidofiele cellen) in de kieuwen van beenvissen	9
Hoofdstuk 2. Verband tussen de acidofiele cellen van kieuw en nevenkieuw bij de beenvissen	19
Hoofdstuk 3. Overeenkomst tussen de Keys-Willmercellen en cellen met eventueel analoge secernerende functie	26
Hoofdstuk 4. Verhouding tussen migratie en minerale regulatie bij de vissen	38

DEEL II. PERSOONLIJK ONDERZOEK

Hoofdstuk 1. Methode van onderzoek en gebruikt materiaal	52
Hoofdstuk 2. Bouw van de kieuwen bij de beenvissen	57
Hoofdstuk 3. Structuur en ligging van de Keys-Willmercellen	60
Hoofdstuk 4. Vergelijking van de mucuscellen en de pseudo- branchiale cellen met de Keys-Willmercellen	66
Hoofdstuk 5. Zoetwater- en zeewateradaptatie bij de Europese paling en beïnvloeding daarbij van de Keys- Willmercellen	70
Hoofdstuk 6. Verband tussen de Keys-Willmercellen en de minerale regulatie bij de Atlantische zalm	86

DISCUSSIE VAN PERSOONLIJKE RESULTATEN	106
---------------------------------------	-----

SAMENVATTING	110
--------------	-----

BIBLIOGRAFIE	116
--------------	-----

LIJST VAN DE PLATEN	129
---------------------	-----

I N L E I D I N G

In 1932 stelden A. KEYS en E.N. WILLMER met de hypothese van de chloride-secretie het probleem betreffende de functie van de acidofiele cellen, die zij hadden ontdekt in de kieuwen van de Europese paling, *Anguilla anguilla* L.

Nochtans hebben niet zij, die thans algemeen naar hen genaamde cellen voor het eerst gezien. Reeds vroeger maakte GRANEL (1927) morfologisch, meer speciaal histologisch de studie van de acidofiele cellen van kieuw en nevenkieuw bij de beenvissen.

KEYS en WILLMER (1932) kwamen tot deze studie vanuit de fysiologie en meer bepaald vanuit een aspect van de osmoregulatie en zoutsecretie bij beenvissen.

Sinds het onderzoek van FREDERICQ (1882) en later werk, meer bepaald dat van BOTTAZZI (1908) weet men dat vele beenvissen in hun bloed een vrij gelijkmatige concentratie bezitten na aanpassing aan water met uiteenlopend zoutgehalte. Bij zeevissen ligt deze concentratie lager dan die van zeewater, zodat het inwendig milieu hypotonisch is ten opzichte van het uitwendig milieu. Daar bij zoetwatervissen de concentratie van het bloed hoger ligt dan die van het omringend water, zijn zij hypertoonisch ten opzichte van het uitwendig milieu.

De urine is iso- of, in zeewater, hypotonisch ten opzichte van het bloed. Homer SMITH (1930) toont aan dat zeevissen onophoudend zeewater drinken wat de veronderstelling van extrarenale zoutexcretie noodzakelijk maakt. Uit een vergelijkende analyse van urine, rectale vloeistof en van zeewater, blijkt dat Mg en SO_4 rectaal worden geëxcreteerd; Na, K en Cl daarentegen worden met een hoeveelheid water in de darm geabsorbeerd en slechts in geringe hoeveelheid in de urine teruggevonden. Hieruit besluit Homer SMITH (1929, 1930) tot de mogelijkheid van een extrarenale en extrarectale excretie van NaCl en KCl bij de beenvissen.

Voor de kraakbeenvissen werd door STAEDELER en FRERICHS (1858) de

aanwezigheid van ureum in het bloed van deze vissen aangetoond. DUVAL (1925) merkte voor het eerst op de hypertoniciteit van het bloed ten opzichte van het omringend zeewater. Meer bepaald geeft Homer SMITH (1931) aan dat het bloed van de kraakbeenvissen, ondanks een zoutgehalte lager dan dat van zeewater, door een hoge uremie hypertonisch is ten opzichte van hun uitwendig milieu. Tengevolge van het resorptie-mechanisme van de nieren behoeven kraakbeenvissen niet aanhoudend te drinken; wateropname kan evenals bij zoetwatervissen plaats hebben door een verschil in diffusiedruk ter hoogte van de semipermeabele mond- en kieuwmembranen. Uit concentratieverschillen van de zouten aanwezig in zeewater, bloed, urine besluit hij tot een extrarenale excretie van NaCl en KCl bij de kraakbeenvissen evenals bij de beenvissen.

De lokalisatie van de extrarenale zoutexcretie bij de beenvissen werd onderzocht door KEYS (1931 a, b) door middel van zijn "hart-kieuw-preparaat" van de paling. Door perfusie vanuit het hart wordt Cl overgebracht van de bloedbaan naar het hypertonisch uitwendig milieu, wat KEYS doet besluiten enerzijds tot de geringe doorlaatbaarheid van de kieuwmembraan en anderzijds tot zoutexcretie tegen de concentratiegradient in, langs mond- en kieuwepitheel.

Bij het zoeken naar de anatomische basis voor deze actieve zoutexcretie langs de kieuwen, ontdekken KEYS en WILLMER (1932) grote cellen van het secretorisch type op de kieuwlamellen van paling en van een tiental andere beenvissen; echter niet op de kieuwlamellen van kraakbeenvissen. Zij komen daardoor tot de veronderstelling van een verband tussen de branchiale zoutexcretie en deze "chloride-secreting cells" of "Keys-Willmercellen".

Deze interpretatie van KEYS en WILLMER (1932) met betrekking tot de acidofiele cellen in de kieuwen van de beenvissen, werd tot een werkhypothese die stimuleerde tot verder onderzoek. De vraag bleef : vertegenwoordigen deze cellen werkelijk de anatomische basis van de extrarenale zoutexcretie die Homer SMITH (1930) bij enkele *Teleostei* ontdekte en KEYS (1931) in de kieuwen van deze vissen lokaliseerde ?

Het literatuuroverzicht in Deel I van dit proefschrift laat enigszins de omvangrijkheid van dit onderzoek vermoeden.

Het onderzoek heeft zich verruimd tot een aanzienlijk aantal *T e l e o s t e i*, en in vergelijking daarmee tot meerdere species uit *C h o n d r i c h t h y e s* en *C y c l o s t o m a t a*. Van deze dieren, afkomstig uit diverse milieus, werden de Keys-Willmercellen vergeleken onderling, en ook met de acidofiele cellen van de pseudobranchie en met cellen met eventueel analoge secernerende functie.

Heeft het object van onderzoek zich uitgebreid, ook de gebruikte methodes werden aangevuld en onderscheiden wetenschappelijke disciplines ingezet.

Dit veelvuldig onderzoek dat echter louter kwalitatief was, leidde niet tot een definitief antwoord op de probleemstelling. Ook schijnen de talrijke experimenten tot uiteenlopende resultaten te voeren, zodat meerdere, zelfs tegenstrijdige interpretaties ontstonden betreffende de functie van de Keys-Willmercellen.

Wij hebben getracht dit probleem op een nieuwe wijze te belichten door een kwalitatief, maar vooral kwantitatief onderzoek van twee trekvissen : De Europese paling en de Atlantische zalm.

Bij deze vissen hebben we de gelegenheid gehad na te gaan hoe de Keys-Willmercellen er uitzagen op verschillende ontwikkelingsstadia van deze soorten en hoe deze zelfde cellen reageerden voor wat hun *a a n t a l* en teven hun *s t r u c t u u r* betreft, wanneer deze dieren experimenteel aan water met verschillend zoutgehalte worden blootgesteld. Indien deze cellen inderdaad iets met zoutregulatie te maken hebben, mag men verwachten dat zij *en* kwalitatief *en* kwantitatief zullen reageren op toestanden waarin de minerale regulatie van de *T e l e o s t e i* min of meer intens in werking treedt.

Het onderwerp van voorliggend proefschrift is een vooral kwantitatief afgestemde cytologische studie van de Keys-Willmercellen vanuit het oogpunt van de zoutregeling bij de migrerende vissen *A n g u i l l a a n g u i l l a* L. en *S a l m o s a l a r* L.

Het eerste deel bevat de bespreking van het onderzoek dat volgde op de ontdekking der Keys-Willmercellen en van die verklaringen van dat onderzoek welke opgenomen werden in de literatuur.

Het tweede deel geeft een relaas over een persoonlijke studie van de kieuwen van paling en zalm. In aanvulling van een vorige studie (VAN DYCK, 1966) werd ook hier gezocht naar het verband tussen het zoutregulatievermogen en de Keys-Willmercellen.

Deel I

LITERATUURGEGEVENS EN BESPREKING.

Hoofdstuk 1

STRUCTUUR EN FUNCTIE VAN DE KEYS-WILLMERCELLEN (ACIDOFIELE CELLEN) IN DE KIEUWEN VAN BEENVISSSEN

Z i j n d e a c i d o f i e l e c e l l e n c h l o r i d e -
s e c e r n e r e n d ?

A. KEYS en E.N. WILLMER (1932) beschrijven de thans algemeen naar hen genaamde cellen zoals deze met een lichtmicroscop kunnen waargenomen worden in de kieuwen van paling (*Anguilla anguilla* L.).

De grote typisch-eivormige cellen verschillen van de gewone, vlakke epitheelcellen en van de daartussen gelegen bekervormige muscuscellen. Ze vormen meestal een ééncellige laag aan de basis van de kieuwlamellen, maar komen ook verspreid voor op de kieuwlamellen zelf. De celdiameter is van de grootte-orde van 15μ .

Het cytoplasma is fijnkorrelig en meer eosinofiel dan dit van het omringend epitheel. De kern is rond, telt 6μ diameter en bevat een duidelijke nucleolus en een netwerk van chromatine. De kern kan centraal liggen in ronde cellen; in langwerpige cellen ligt zij basaal, tegen de intredende bloedbaan aan.

De auteurs tellen tot acht, zelfs tot tien cellen per lamel en beraamen het totaal aantal acidofiele cellen, in een paling van 250 g gewicht, tussen de drie en de zes miljoen.

Gelijkaardige cellen, hoewel in geringer aantal en van kleiner afmeting, vinden zij bij een vijftal in zee levende beenvissen. Voor S a l - m o s a l a r L. zien zij in één adult specimen, op paaitrek gevangen, goedgevormde acidofiele cellen tussen de kieuwlamellen; in één zeer jong specimen ontdekken zij er geen, maar slechte fixatie met formol wordt toegegeven.

Bij zoetwatervissen ontbreken de cellen of indien aanwezig, is hun aantal kleiner dan bij de zeevissen en zijn ze soms moeilijk te onderkennen van epitheel- en muscuscellen.

KEYS en WILLMER menen dat de acidofiele cellen aan de basis van de kieuwlamellen van de beenvissen de structuur vertonen van secretorische cellen. Mede op grond van de experimenteel bevestigde chloride-secretie door de kieuwen trekken zij het gevolg dat deze acidofiele cellen zouden verband houden met de chloride-secretie door de kieuwstreek.

KEYS en WILLMER trachten hun veronderstelling te staven door logische redenering. De ligging der cellen is zodanig dat er een complementair karakter bestaat tussen de zuurstof-behoefte van de actief-zoutexcreterende cellen aan de basis van de lamellen gelegen, en de zuurstofverzadiging van het bloed doorheen het hoger gelegen respiratorisch epitheel.

Al zeggen KEYS en WILLMER dat een eindbesluit dient voorafgegaan door een onderzoek van materiaal uit meerdere en diverse milieus, toch noemen zij de gevonden cellen "chloride-secreting cells" functioneel verbonden met de chloride-secretie door de kieuwen van de paling, en waarschijnlijk van andere mariene beenvissen.

De interpretatie van de aanwezigheid van de acidofiele cellen bij sommige zoetwatervissen is moeilijk. De cellen zouden a-functioneel zijn ofwel geschikt tot zoutabsorptie in zoet water. Zo zouden zij geschikt zijn tot zouttransport in beide richtingen, telkens tegen de concentratiegradiënt in, en dus een actief mechanisme vertegenwoordigen voor het behoud van een constant zoutgehalte in het bloed en bij zee- en bij zoetwatervissen.

Rekening houdend met de relatief zwakke argumenten waarop de interpretatie van KEYS en WILLMER berust, is het dan ook niet te verwonderen dat hun opvatting niet zonder meer aanvaard werd.

Z i j n d e a c i d o f i e l e c e l l e n m u s c u s c e l l e n ?

G. BEVELANDER (1935) argumenteert tegen KEYS en WILLMER in. Van fysiologisch en fylogenetisch standpunt uit bestudeert hij het respiratorisch kieuwepitheel bij specimens behorend tot zevenentwintig families en zesendertig soorten. De proefdieren werden representatief gekozen uit *Cyclostomata*, *Elasmobranchii* en *Teleostei* van diverse milieus. In aansluiting bij meerdere auteurs uit de

19^{de} en het begin van de 20^{ste} eeuw besluit hij dat de epitheelcellen in de kieuwen van vissen kunnen verschillen in vorm : bij *T e l e o s t e i* zijn ze meestal vlak, soms kubisch (*O n c o r h y n c h u s*); bij *E l a s - m o b r a n c h i i* meer polyedrisch. De daartussen gelegen anders ge-structureerde cellen interpreteert hij op grond van toegepaste kleuringen, als muscuscellen in verschillende stadia van hun fysiologische activiteit. De muscuscellen zijn volgens hem de enige gespecialiseerde secretorische cellen die in de kieuwen voorkomen. Voor de extrarenale zoutuitwisseling tussen bloed en uitwendig milieu door de kieuwen, oordeelt hij het respiratorisch epitheel zelf daartoe geschikt; ook het mond- en kieuwholte-epitheel, waarin hij dezelfde cellen vindt.

Zijn studie "Branchial glands in fishes" (1936) handelt over vijftig vissoorten. Op grond van ligging en morfologische structuur onderscheidt hij drie types en zeven subtypes van intra-epitheliale klieren. Hij vindt geen bepaalde correlatie tussen de structurele complexiteit van de klieren en de veronderstelde afstamming van de vissen. Opnieuw besluit hij : deze structuren zijn mucusklieren in het epitheel gelegen.

T. VICKERS (1961) tracht te verklaren wat BEVELANDER tot dit besluit bracht. VICKERS experimenteerde op 120 specimens *L e b i s t e s r e e - t i c u l a t u s*. Van deze zoetwatervissen kon hij in zeewater 50 % levend houden, mits zeer geleidelijke stijging van de zoutconcentratie. Bij het histologisch onderzoek van vissen die zich niet adapteerden aan de toenemende saliniteit stelde hij vast - doch slechts in drie gevallen - dat de Keys-Willmercellen tekens vertoonden van de vorming van mucusstoffen. Hij benadrukt het uitzonderlijke van dit omvormen van celtype, maar acht het mogelijk dat BEVELANDER gelijkaardige gevallen waarnam.

Ook JONES (1959a) acht het niet uitgesloten dat de Keys-Willmercellen alleen of hoofdzakelijk betrekking hebben op mucusproductie.

D.E. COPELAND (1948) meent dat de zogenaamde chloride-cel een gewijzigde mucuscel zou kunnen zijn en dat mucus- en chloride-secretie eventueel kunnen samengaan : "The chloride might well be excreted as a part of, or accompanying the mucus".

De tegenstrijdige interpretatie door KEYS en WILLMER (1932) enerzijds en door BEVELANDER (1936) en VICKERS (1961) anderzijds stelde het

probleem betreffende de acidofiele cellen in de kieuwen van beenvissen scherper en wel in zijn tweevoudig aspect, nl. structuur en functie. In recente werken wordt de structuur onderzocht door middel van de elektronenmicroscop; de functie tracht men histochemisch te onderzoeken.

H e t h i s t o c h e m i s c h o n d e r z o e k

In zijn onderzoek op de euryhaline estuariumvis *Fundulus heteroclitus* onderscheidt COPELAND (1947a, 1948, 1950) zuilvormige chloride-cellen van ronde mucuscellen. Beide liggen verspreid over het kieuwfilament in geheel zijn lengte, ter hoogte van kieuwstraal en aanvoerend bloedvat, maar niet in het respiratorisch epitheel van de kieuwlamellen.

Bij vissen geadapteerd aan zeewater ziet COPELAND als karakteristieke structuur, aan het vrij uiteinde van de chloride-cel een helder blaasje met kleine opening naar buiten. Bij verblijf in zeewater, verdund tot op 1/16 of meer, verdwijnt die excretievacuool.

Na zeewateradaptie reageert de vacuoolinhoud sterk op de zilver-chloride-test van LESCHKE (1914), gewijzigd volgens LISON (1936). Na zoetwateradaptie kon slechts weinig chloride worden aangetoond. SCHLIEPER beschouwde reeds in 1933 dat in de eerste plaats het chloride-gehalte in de cellen zelf, maatgevend zou zijn voor de intensiteit van de chloride-excretie. Over de uitslag echter van de gebruikte chloride-test is COPELAND niet zeker. Volgens LISON (1953) is voor de indirecte zilver-chloride-test, toegepast op weefselblokjes, het resultaat topografisch onzeker en niet specifiek. Er is namelijk een verschil in diffusiedruk: het oplosbaar Cl-ion verspreidt zich vlugger dan het zilverzout waardoor de neerslag moet worden gevormd. Daarbij blokeert het zout, door ontaarding van de proteïnen, de eigen diffusie. Het overvloedig zilverzout is moeilijk uit te wassen, zodat hieruit door de toegevoegde reductor eveneens zilver wordt vrijgemaakt.

Door verder histochemisch onderzoek lokaliseren O. PETTENGILL (1947), O. PETTENGILL en D.E. COPELAND (1948) bij zeewateradaptie alkalische fosfatase-activiteit rond de excretievacuool; bij zoetwateradaptie tussen

celtop en kern. De toegepaste methode volgens GOMORI (1941) is insgelijks een indirecte methode waarbij secundair een zwaar metaal wordt vrijgemaakt. LISON (1953) stelt daarenboven de vraag naar de graad van enzymatische activiteit behouden na fixatie en verdere bewerkingen van het preparaat. PETTENGILL en COPELAND (1948) citeren LUNDSGAARD (1939) : Alkalische fosfatase zou voorkomen waar energie moet geleverd worden voor transport van materiaal doorheen de celmembraan. COPELAND (1950) ziet in deze enzymatische activiteit de bevestiging dat bij *Fundulus heteroclitus* extrarenale zoutexcretie en zoutabsorptie zouden plaats hebben zoals KROGH (1939) dit had vermoed voor *Fundulus* en voor *Gasterosteus*, en zoals voor deze laatste beschreven werd door HEUTS (1942), KOCH (1942), KOCH en HEUTS (1943). Volgens COPELAND zou bij *Fundulus heteroclitus* dit dubbel mechanisme verwezenlijkt worden door de chloride-cellen in de kieuwen. N. COLIN (1960) treedt de besluiten van COPELAND bij.

Volgens H.G. GETMAN (1950) vertonen ook bij *Anguilla rostrata* de kieuwen cytologisch een verschillend beeld naargelang de saliniteit van het milieu. Bij vissen uit zeewater bemerkt hij een smalle groeve aan de top van de chloridecellen en ziet deze groeve aan als het equivalent van de excretievacuool bij *Fundulus heteroclitus*. Bij zoetwateradaptatie bleef bij *Anguilla* deze groeve sporadisch bestaan, waar de excretievacuool bij *Fundulus* verdwijnt. Structuurverschil blijkt duidelijk na 6 u bij overgang van zoet water naar zeewater. Na 15 u schijnen de palingen cytologisch aangepast. Hij merkt op dat KEYS (1932) in zijn experiment op *Anguilla anguilla*, 48 u voor de volledige fysiologische aanpassing noteerde. De zoetwateradaptatie vroeg bij *Anguilla rostrata* drie tot vijf dagen.

Op grond van de fysiologische bewijzen van HOMER SMITH (1930) en KEYS (1931 a, b) voor de extrarenale zoutexcretie en van de cytologische differentiatie in verband met de saliniteit van het milieu, stelt GETMAN (1950) de volgende hypothese voorop : De aanwezigheid van de groeve in de acidofiele cellen is een aanwijzing voor chloride-excretie in relatief grote hoeveelheid per cel. De afwezigheid ervan kenmerkt zoetwa-

teradaptatie en wellicht ook chloride-absorptie in relatief geringe hoeveelheid per cel. Het gering aantal groeven zou dan wijzen op een nog onvolledige aanpassing van zoet water, waarschijnlijk toe te schrijven aan de voorwaarden waarin het experiment plaats had.

Voor de zoutabsorptie in zoet water verwijst GETMAN naar KROGH. Inderdaad kon KROGH (1937b, 1939) de zoutabsorptie vanaf concentraties zoals in zoet water aanwezig, bewijzen voor vele zoetwatervissen; voor paling kon hij deze niet aantonen. De resultaten van zijn experimenten deden hem veronderstellen dat palingen in zoet water hun zoutconcentratie behouden of door opname van zouten met het voedsel of doordat ze beschikken over het merkwaardig vermogen zoutverlies te voorkomen, ofwel door beide procédés tegelijk.

Volgens GETMAN (1950) zou dus ook bij *Anguilla rostrata* een dubbel mechanisme voor zoutregeling aanwezig zijn, al nam hij aan dat de zoutabsorptie in zoet water in gebreke kan blijven.

G. COLOMBO (1960, 1961) herneemt het histochemisch onderzoek op *Anguilla anguilla* L. Hij ook past de chloride-test van LESCHKE toe. Daar hij het tekort aan specificiteit van deze test kent, tracht hij de onzekerheid van de resultaten te verminderen door te experimenteren in standaardvoorwaarden en door het gebruik van vergelijkingsmateriaal. Het is de verdienste van COLOMBO in zijn nauwkeurig onderzoek de reacties afzonderlijk te hebben nagegaan bij gele paling en bij zilverpaling. Gele paling, zowel die uit zeewater als die van zoet water, vertoonde steeds een positieve chloride-test. Voor zilverpaling was de chloride-test sterk positief bij zeewateradaptatie, maar duidelijk negatief bij die vissen welke in zoet water werden weerhouden. Gele paling bleek dus meer euryhalien dan zilverpaling, bekwaam tot zoutexcretie in zeewater en tot zoutabsorptie in zoet water. Bij zilverpaling werkt het zoutregelend mechanisme dan slechts in één richting, zodat zilverpaling genoodzaakt is naar zee te migreren. Weerhouden in zoet water zou hij zijn zoutbalans in evenwicht houden door het drinken van veel water. Als indirect bewijs hiervoor citeert COLOMBO uit DEFRISE (1934) dat paling in zoet water tienmaal meer urine elimineert dan in zeewater.

Zo besluit COLOMBO (1961) tot de waarschijnlijkheid van zoutregulatie bij *Anguilla anguilla* L. door de acidofiele cellen in de kieuwen, al is deze regulatie verschillend voor gele- en voor zil-verpaling.

H e t o n d e r z o e k m e t d e e l e k t r o n e n m i c r o -
s c o o p

Voor het begrijpen van de biochemische processen die zich in de cel voordoen, stelt zich in de biologie het probleem van de visualisatie van de cellulaire ultrastructuren. Vooral sinds de laatste vijftien jaren werd getracht dit probleem op te lossen en tegelijk de celactiviteit te verklaren door studies bij middel van de elektronenmicroscop. Langs deze weg is onderzoek op levend materiaal echter nog niet mogelijk. Met de lichtmicroscop werd het onderzoek, algemeen gesproken, juist waardevol van zodra door vergelijking van gefixeerd met levend materiaal artefact van werkelijkheid kon onderscheiden worden. Van het onderzoek met de elektronenmicroscop zijn de resultaten bijgevolg thans nog iets meer problematisch.

Het onderzoek van de Keys-Willmercellen met de elektronenmicroscop werd doorgevoerd voor meerdere vissoorten, o.a. voor *Fundulus heteroclitus* door DOYLE en GORECKI (1961), KESSEL en BEAMS (1962), PHILPOTT en COPELAND (1963), PHILPOTT (1965); *Salmo salar* L. door THREADGOLD en HOUSTON (1961, 1964); *Anguilla rostrata* door GETMAN (1950); *Pleuronectes flesus* door HOLLIDAY en PARRY (1962); *Lebistes reticulatus* P. door STRAUSS (1963).

De ultrastructuur (plaat 1) van de acidofiele cellen in de kieuwen van de *Teleostei* wordt door bovengenoemde auteurs als volgt beschreven :

De cel is langwerpig, de celwand licht gegolfd, terwijl de omringende vlakke epitheelcellen zogenaamde microvilli vertonen. STRAUS (1963) merkt op dat het in werkelijkheid cytoplasmatische groeven zijn.

De ronde of ovale kern is meestal basaal gelegen en omgeven door een dubbele membraan. De kerninhoud is niet zeer elektron-dens en bevat een nucleolus.

Het cytoplasma wordt in de lichtmicroscop als typisch korrelig gezien. Met de elektronenmicroscop identificeert men deze korrels als mitochondrieën, langwerpige organellen evenwijdig gericht met de lengte-as van de cel. Op dwarsnede zijn ze rond of ovaal; de kammen van de mitochondrieën hebben geen vast patroon, ze kunnen transversaal en longitudinaal geplaatst zijn. In de apicale zone van de cel zijn de mitochondrieën zeer talrijk, rond de kern zijn er minder; occasioneel komen er ook intramitochondriale korrels voor.

Een endoplasmatisch reticulum ligt volgens een kenmerkend patroon uitgespreid tussen de mitochondrieën, als een dicht netwerk van vertakte buisjes en kanaaltjes. Deze kanaaltjes, glad van oppervlak, lijken de verbinding tussen de buitenste mitochondrie-membraan en de celmembraan.

Golgi-apparaten liggen in wisselend aantal rond de kern. Het zijn als geplooid, soms uitbochtende membranen. Een tweede soort beperkter endoplasmatisch reticulum, met kanaaltjes die wijder zijn en meer oneffen van wand, ligt tussen de Golgi-apparaten en de nucleuswand. Aan de top van de cel kunnen ook multivesiculaire lichaampjes voorkomen.

Op grond van hun experimenten en daaropvolgend celonderzoek, treden bovengenoemde auteurs gedeeltelijk de hypothese bij van zoutexcreterende functie van de acidofiele cellen, zoals KEYS en WILLMER (1932) die stelden.

THREADGOLD en HOUSTON (1961, 1964), DOYLE en GORECKI (1961), PHILPOTT en COPELAND (1963) noteren dat in de elektronenmicroscop het structuurverschil tussen de mucuscellen en de hooggespecialiseerde chloride-cellen duidelijk te merken valt.

De acidofiele cellen onderscheiden zich van de epitheelcellen door een groter aantal mitochondrieën, een complexer systeem van endoplasmatisch reticulum en een kern die minder elektron-dens is en boller van vorm. Door studie van centrifugaal geïsoleerde mitochondrieën werden deze ontdekt als zijnde de voornaamste systemen van energie-transfer in de cel (PALADE 1953, SJÖSTRAND 1953, 1956). Ten gevolge daarvan kunnen

ULTRASTRUCTUUR VAN DE KEYS-WILLMERCCEL

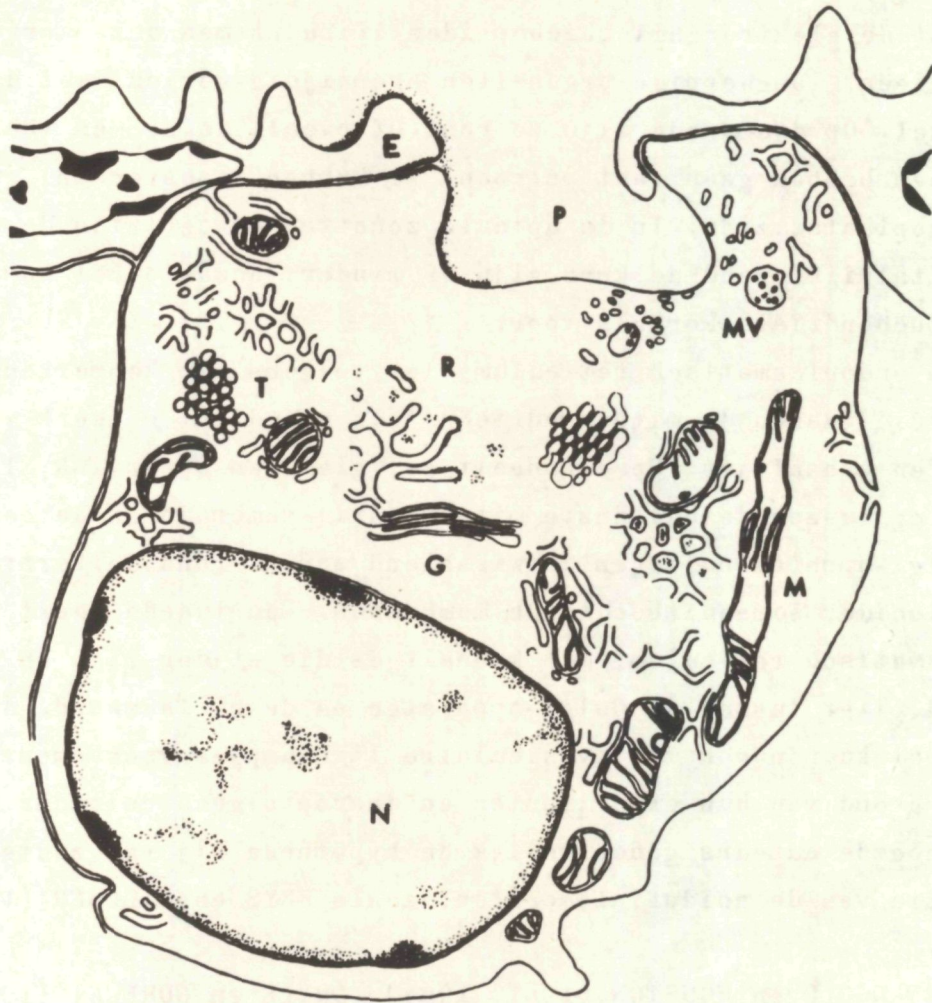


Diagram naar elektron-micrografieën van de Keys-Willmercel bij *Lebistes reticulatus* P. Het cytoplasma is gekenmerkt door talrijke mitochondria (M) en overvloedig endoplasmatisch reticulum met smalle gladde tubuli (T); deze tubuli staan ten dele in verbinding met de celmembraan. Minder talrijk voorkomende insluitsels van het cytoplasma zijn: het Golgi-apparaat (G), een tweede endoplasmatisch reticulum met wijder, oneffen tubuli (R) en de multivesiculaire lichaampjes (MV). De nucleus (N) is basaal gelegen en de cel is bekleed met respiratorisch epitheel (E) uitgezonderd bij de apicale invaginatie (P).

Naar L.P. STRAUSS (1963).

de chloride-cellen aangezien worden als hoog-actieve cellen.

Al komen bij het overzetten van zoet- naar zeewater en omgekeerd dezelfde organellen voor, toch zijn de acidofiele cellen in hun zoetwater-vorm minder electron-dens dan in zeewaterform. De hoeveelheid mitochondrieën echter is bij de gegeven vergroting moeilijk te schatten (KESSEL en BEAMS 1962).

In de zoutwatervorm treedt echter apicaal een vormverandering in. Voor *Fundulus heteroclitus* meldt COPELAND (1948) een excretievacuool, zoals reeds gezegd. DOYLE en GORECKI (1961), KESSEL en BEAMS (1962) bekomen in hun sneden een duidelijk zichtbare apicale invaginatie, vrijgelaten door het bekledend respiratorisch epitheel. PHILPOTT en COPELAND (1963) observeren in het endoplasmatisch reticulum amorf materiaal waarvan de densiteit apicaal toeneemt; het reticulum convergeert naar de celtop toe en zou dit amorf materiaal in de excretievacuool vrijgeven.

Bij *Fundulus heteroclitus*, geadapteerd aan zeewater, tracht PHILPOTT (1965) chloride-secretie te lokaliseren. Een kieuwgedeelte wordt gefixeerd in een oplossing van zilveracetaat-osmium-tetroxyde. In de ongekleurde kieuwsneden ziet hij op de basisrand van de excretievacuool een zeer dicht, korrelig reactieprodukt. Door middel van elektron-diffractie identificeert hij dit reactieprodukt als zilverchloride. De auteur merkt op dat het nochtans niet mogelijk is op grond van deze evidentie te bepalen welke excretiestof zich in het cytoplasma bevindt, temeer daar de excretievacuool gevuld is met het vroeger geobserveerde mucopolysaccharide (PHILPOTT en COPELAND 1963, PHILPOTT 1965). Daar dit reactieprodukt verder over het epitheel niet in zulke hoeveelheid voorkomt, meent de auteur dat de aanwezigheid van chloride op de basisrand van de excretievacuool een aanwijzing kan zijn van de zoutregelende functie van de chloridecellen. STRAUSS (1963) vindt ook bij de *Lebistes reticulatus* P. een apicale invaginatie, zoals op het schema hiertegenover is aangeduid. De apicale groeve bij *Anguilla rostrata* zoals GETMAN (1950) ze zag, is reeds vermeld. In een uitgebreide studie beschrijven THREADGOLD en HOUSTON (1961, 1964) de chloride-cellen bij vier groepen van *Salmo sal-*

l a r L. Zij zien een correlatie tussen de morfologische en secretorische activiteit van de chloride-cellen en de zoutregeling van het plasma bij de vissen. Bij actief secreterende cellen ontdekken zij subapicale "microvesicles", kleine blaasjes die zich zouden verplaatsen naar, en hun inhoud vrijgeven in de apicale invaginaties. De auteurs bouwen een hypothese op voor het secretieproces en suggereren daarbij dat de excretie van de chloride-cellen zou zijn : "een anorganisch electrolyt in een organische matrix".

Al interpreteren al deze auteurs de geziene structuren op gelijke wijze, toch trekken ze een verschillende eindconclusie.

THREADGOLD en HOUSTON (1961, 1964) spreken zich uit voor een verband tussen de acidofiele cellen en zoutregeling bij *Salmo salar* L.; COPELAND (1948), KESSEL en BEAMS (1962), PHILPOTT en COPELAND (1963), PHILPOTT (1965) doen hetzelfde voor *Fundulus heteroclitus*. KESSEL en BEAMS achten het mogelijk dat indien de chloride-cel betrokken is bij de zoutregeling, het endoplasmatisch reticulum zou fungeren als een ionen-conductor-systeem.

Voor *Fundulus heteroclitus* achten DOYLE en GORECKI (1961) en voor *Lebistes reticulatus* P. oordeelt STRAUSS (1963) dat het morfologisch verschil tussen de zoetwater- en de zeewatervorm van de chloride-cel te gering is om te mogen besluiten tot een verband met zoutregeling. STRAUSS vermeldt ook bij de zoetwatervorm een apicale invaginatie.

HOLLIDAY en PARRY (1962) spreken niet van een aanwezig zijn noch van een afwezig zijn van een apicale groeve, hoewel zij bevestigen dat de structuur van de acidofiele cellen bij *Pleuronectes flesus* zeer sterk gelijkt op die door andere auteurs beschreven. HOLLIDAY en PARRY kennen aan deze cellen eerder een endocriene functie toe, wat in volgend hoofdstuk zal worden besproken.

Hoofdstuk 2

VERBAND TUSSEN DE ACIDOFIELE CELLEN VAN KIEUW EN NEVENKIEUW BIJ DE BEENVISSEN

Uit het literatuuroverzicht genoteerd in het eerste hoofdstuk blijkt duidelijk dat de interpretatie van KEYS en WILLMER (1932) met betrekking tot de acidofiele cellen in de kieuwen van de beenvissen, vaste voet kreeg als een werkhypothese die stimuleert tot verder onderzoek.

KEYS en WILLMER (1932) benaderden het gestelde probleem vanuit de fysiologie en wel speciaal vanuit het aspect van osmoregulatie en zoutsecretie. Al hebben zij de acidofiele cellen vanuit deze gezichtshoek "ontdekt", toch zijn zij niet de eersten die deze cellen hebben waargenomen. Inderdaad, reeds vroeger werd vanuit morfologisch oogpunt, meer speciaal histologisch, de studie gemaakt van de pseudobranchie of nevenkieuw en van de acidofiele cellen daarin gelegen; ook werd onderzocht of er verband bestaat tussen de acidofiele cellen van de pseudobranchie en die van de kieuwen van de beenvissen.

S t r u c t u u r e n o o r s p r o n g v a n d e p s e u d o b r a n c h i e

F. GRANEL (1927) in "La pseudobranchie des poissons" geeft de historie van de studie der pseudobranchie. Hij citeert BROUSSONET (1782, 1785) voor de naamgeving en eerste exacte beschrijving. De pseudobranchie heeft slechts één rij filamenten, maar verder een lamellaire structuur zoals de kieuwen.

MÜLLER (1897) bestudeert de vascularisatie van deze "bloedklier" : embryonaal is de bloedtoevoer veneus, in het adult stadium arterieel. Deze hemibranchie (JOLLIE, 1962) blijkt bij de beenvissen de minder ontwikkelde kieuw te zijn op de mandibulaire boog, embryonaal de eerste kieuwboog; zij is dus homoloog met de pseudobranchie of spiraculumkieuw

van de kraakbeenvissen (STORK, 1932).

In zijn histologische en embryologische studie van de beenvissen onderscheidt MAURER (1884) in de nevenkieuw grote polyedrische cellen en basaal daarin een ronde heldere kern met nucleool. Hij ziet deze cellen aan als sterk ontwikkelde branchiale epitheelcellen.

GRANEL (1927) zet het onderzoek voort. Voor een groot aantal beenvissen onderscheidt hij meerdere typen van nevenkieuwen : vrijliggend in het craniaal gedeelte van de kieuwholte, ofwel geheel of gedeeltelijk bedekt door het bindweefsel en het epitheel daarvan. Voor al deze nevenkieuwtypen identificeert hij de polyedrische cellen van MAURER als "pseudobran- chiale of acidofiele cellen" verschillend van de gewone epitheelcellen en onder deze gelegen. De ontwikkeling van de pseudobranchie gaat hij bijzonder na bij *C y p r i n u s c a r p i o* : hij meent dat de pseudobranchiale cellen van mesenchymatische oorsprong zijn en zich differentiëren uit eenzelfde mesenchymatische as als het endotheel van bloedvaten, de pilastercellen en de erythrocyten. In overeenstemming met VIALLI (1926) vermeldt hij dat deze acidofiele cellen aanwezig zijn in de pseudobranchie van de bestudeerde beenvissen. In kraakbeenvissen werden geen acidofiele cellen erkend van het type aanwezig in beenvissen, maar wel niet-vlakke epitheelcellen.

Aansluitend bij de richting hoofdzakelijk aangegeven door MÜLLER (1897) en GRANEL (1927), hernemen vele auteurs de studie van de pseudobranchie, o.a. NICHITA (1928) voor *G i r a r d i n u s g u p p y i*, KRYZANOVSKY (1934) voor meerdere Teleostei.

LEINER (1938), in "Die Physiologie der Fischatmung" meent dat de acidofiele cellen in kieuw en nevenkieuw differentiaties zijn van het epitheel.

Z i j n d e a c i d o f i e l e c e l l e n i n k i e u w
e n n e v e n k i e u w i d e n t i s c h ?

Voor KEYS en WILLMER (1932) blijkt deze vraag niet te bestaan. Zij onderzochten hoofdzakelijk de paling, waarvan wordt aangenomen dat hij - althans na de metamorfose - geen pseudobranchie bezit (GRANEL 1927, LEINER 1938, BERTIN 1958, LAGLER 1962, PARRY en HOLLIDAY 1960).

GRANEL (1927) bestudeert meerdere soorten met een pseudobranchie. Voortgaande op de oorsprong en de lamellaire structuur van kieuw en nevenkieuw besluit hij tot parallelisme tussen beide organen. Hij behandelt de acidofiele cellen in kieuw en nevenkieuw als identisch, al zijn ze karakteristiek in aaneengesloten rijen aanwezig in de nevenkieuw doch slechts sporadisch in de kieuwen.

Ook LEINER (1938) stelt het probleem niet : zoals reeds gezegd ziet hij acidofiele cellen aanwezig in kieuw en nevenkieuw, zelfs in de zwemblaas waar gaswisseling plaats heeft.

De vraag naar de identiciteit van de acidofiele cellen in kieuw en nevenkieuw werd maar gesteld bij de studie van functie en ultrastructuur van deze cellen.

F u n c t i e v a n d e p s e u d o b r a n c h i e

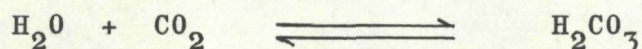
GRANEL (1927) is zich bewust van de ontoereikendheid van zijn onderzoek. Meerdere mogelijkheden stelt hij voorop : De pseudobranchie zou een respiratorische functie vervullen zolang zij veneus bloed ontvangt, d.i. vóór de ontwikkeling van de eigenlijke kieuwen ; door de omschakeling op de arteriële circulatie wordt ze ongeschikt voor deze ademhalingsfunctie. SOLEWSKI (1957) komt door zijn studie van de bloedcirculatie in *Salmoides* Gibb. tot hetzelfde besluit. Ze zou de bloeddruk regelen en daarbij een hematopoëtische en hematolytische functie vervullen, dit op grond van haar sterk ontwikkeld haarvatennet.

Bij de beenvissen zou ze ook een endocriene functie vervullen en dit door de aanwezigheid van de acidofiele cellen. Na bilaterale pseudobranchectomie (VIALLI 1926) worden de vissen blind, ten gevolge van het afsnijden van de bloedtoevoer naar het oog. Zij blijven evenwel in leven, zodat de pseudobranchie als klier niet streng levensnoodzakelijk zou blijken te zijn.

GRANEL (1927) besluit dat de pseudobranchie niet rudimentair is, en hoewel een orgaan met gewijzigde functie, door oorsprong en potentie toch identisch is met de kieuwen.

KRYZANOVSKY (1934) herneemt de uitsnijdingsproeven op *Esox* en constateert slechts als positief resultaat bij de blind geworden vissen een blijvende donkere pigmentatie. Hij laat de vraag open of die verkleuring haar oorzaak vindt in de blindheid ofwel in het ontbreken van de pseudobranchie. De acidofilie der cellen zou volgens hem teken en gevolg kunnen zijn van de regressie van het orgaan. Wel zou er een zekere correlatie bestaan tussen het ontbreken van de pseudobranchie en de geringe ontwikkeling van het oog (IHLE 1947, GRANEL 1960).

Uit een vergelijkende studie op zee- en zoetwatervissen van de katalytische werking van weefselbrij, stellen LEINER (1938) en MAETZ (1953) vast dat de pseudobranchie het hoogst gehalte aan enzymen, met name aan koolzuuranhydrase, bevat. Dit koolzuuranhydrase, dat een functie heeft bij het evenwicht



zou door de acidofiele cellen worden geproduceerd, hoofdzakelijk in de pseudobranchie, maar ook in de organen van vlugge gaswisseling: kieuwen en zwemblaas. LEINER (1938) meent dat de acidofiele cellen enkel uit dien hoofde kunnen aanwezig zijn in de kieuwen.

Ook voor het oog zou de pseudobranchie, door het produceren van dit ferment en in samenwerking met de chorioïdklier, een hulpademhalingsorgaan betekenen.

Een rechtstreeks bewijs voor de produktie van koolzuuranhydrase door de acidofiele cellen is dit niet. LEINER (1938) oordeelt ook zo, doch merkt op dat deze cellen een excretorisch karakter hebben en de chloride-secretie door KEYS en WILLMER voorgesteld, niet voldoende gefundeerd is.

De vooropgestelde hypothesen met betrekking tot de functie van de pseudobranchie worden getoetst door PARRY, HOLLIDAY en BLAXTER (1959), PARRY en HOLLIDAY (1960) bij hun onderzoek op mariene- en zoetwatervissen.

Met uitzondering van KEYS en WILLMER (1932) en LEINER (1938, 1940) worden de auteurs door hen niet genoemd. Door vergelijking van normale vissen met die waarbij de pseudobranchie werd weggenomen door het uitsnijden of het wegbranden ervan, en met in-schijn-geopereerde vissen,

konden zij geen verandering aantonen noch in de zoutregelende functie, noch in de respiratorische uitwisseling. Evenals KRYZANOVSKY (1934) komen ze tot de bevinding dat, na pseudobranchectomie, de vissen donker pigmenteren. Ook stellen zij vast dat er na enkele weken degeneratie intreedt van de chorioïdklier van het oog. Zij formuleren de hypothese, dat de pseudobranchie een hormoon zou produceren of althans activeren, dat de chromatoforen-expansie in de huid beïnvloedt. De overgang van dit hormoon in de algemene circulatie zou gecontroleerd worden door de chorioïdklier.

De opzet van PARRY e.a. (1959,1960) was door studie van de pseudobranchie, waarin buiten de bloedbaan hoofdzakelijk acidofiele cellen aanwezig zijn, de functie van de acidofiele cellen in de kieuwen te achterhalen. Doch, zoals P. MORRIS (1960) terecht doet opmerken, blijft het cruciaal punt te weten of de acidofiele cellen van kieuw en nevenkieuw al dan niet identisch zijn.

U l t r a s t r u c t u u r v a n d e p s e u d e b r a n c h i a l e c e l l e n i n v e r g e l i j k i n g m e t d e K e y s - W i l l m e r c e l l e n

De zorgvuldige tekeningen van LEINER (1938) laten vermoeden dat hij de acidofiele cellen bij meerdere vissoorten nauwkeurig waarnam met de lichtmicroscop-olieïmmersie. Voor *G o b i u s n i g e r* en *J u l i s v u l g a r i s* tekent hij een filamentgedeelte van de kieuw en een van de nevenkieuw; de acidofiele cellen zijn groter in de nevenkieuw dan in de kieuw, de grote ronde kern is donkerder weergegeven voor de kieuw, het cytoplasma bevat korrels gericht van bloedlacune naar epitheel. De korreling wordt denser naar de celtop toe; ze is intenser in de kieuw dan in de nevenkieuw. LEINER (1938) bespreekt deze verschillen niet; evenmin de betekenis van de in het uitwendig epitheel opengelaten porie waarbij een uitbocht van het cytoplasma aansluit, zodat de acidofiele cel aan de top met het ademwater in verbinding staat, terwijl ze met de brede basis tegen de bloedlacune aanligt. Bij onderzoek met de elektronenmicroscop werd, zoals hierboven reeds vermeld, door meerdere auteurs een apicale groeve of excretievacuool opgemerkt in de acidofiele cellen van de kieuw, maar niet in die van de nevenkieuw.

In 1947 besluit COPELAND, na onderzoek op *Fundulus heteroclitus*, op grond van de acidofilie en van de vorm en de schikking van de mitochondrieën, tot de homologie tussen de onderzochte cellen in kieuw en nevenkieuw. In een nieuwe studie met de elektronenmicroscop zien COPELAND en DALTON (1959) bij *Fundulus heteroclitus* de staafvormige mitochondrieën parallel liggen met de celtop en niet loodrecht erop; zij oordelen dat het endoplasmatisch reticulum een complex communicatiesysteem zou vormen tussen de bloedbaan en de mitochondrieën. Deze auteurs merken op dat in geen andere cellen een even complexe differentiatie van het endoplasmatisch reticulum bestaat; de vergelijking met de Keys-Willmercellen wordt echter niet doorgetrokken.

DOYLE en GORECKI (1961) menen dat de door hen geziene Keys-Willmercellen in de kieuwen van *Fundulus heteroclitus* identisch zijn met de pseudobranchiale cellen gezien door COPELAND en DALTON (1959). Microfotografieën zijn echter moeilijk te vergelijken en te interpreteren. Na dit identisch verklaren trekken DOYLE en GORECKI (1961) het onverwachte besluit, dat, gezien de acidofiele cellen in het epitheel liggen, specifiek daarin verspreid, er bijgevolg twijfel bestaat betreffende hun veronderstelde functie van zoutexcretie of -absorptie in de kieuwen.

KESSEL en BEAMS (1962) daarentegen verklaren in de onderzochte kieuwfilamenten in voldoende hoeveelheid buiten de mitochondrieën-rijke chloride-cel geen ander celtype te hebben waargenomen dat kan verantwoordelijk gesteld worden voor de zoutexcretie.

Bij de reeds gemelde studie van HOLLIDAY en PARRY (1962) op *Pleuronectes flesus*, werden de acidofiele cellen in kieuw en nevenkieuw door de auteurs vergeleken; de cellen van deze organen leken karakteristiek van voorkomen en identisch. Aan de cellen van de pseudobranchie werd een endocriene functie toegeschreven in verband met pigmentatie (PARRY en HOLLIDAY 1960). Deze functie werd niet aangetoond voor de acidofiele cellen in de kieuwen. Zolang de functie van de cellen nog betwijfeld wordt, zal het volgens KESSEL en BEAMS (1962), moeilijk blijven bij een studie met de elektronen-microscop een bepaalde waarde toe te kennen aan de celdelen en bijgevolg blijft het resultaat

van vergelijking nog onzeker.

Uit al dit onderzoek volgt dat niet meer het secretorisch karakter van de Keys-Willmercellen betwijfeld wordt, maar wel de aard van de secretie.

Hoofdstuk 3

OVEREENKOMST TUSSEN DE KEYS-WILLMERCELLEN EN CELLEN MET EVENTUEEL ANALOGIE SECERNERENDE FUNCTIE

H e t k l i e r v o r m e n d e p i t h e e l b i j M a m m a -
l i a e n b i j T e l e o s t e i

Bij de ontdekking van de chloride-cellen in de kieuwen van *Anguilla anguilla* L. meenden KEYS en WILLMER (1932) voor deze cellen histologisch een gelijkenis te mogen vaststellen met de HCl secreterende cellen in de maagmucosa van de *Mammalia*; echter is in de secretie van de chloride-cellen niet het waterstof-ion aanwezig maar wel het natrium- of kalium-ion. STRAUSS (1963) citeert meerdere auteurs die deze gelijkenis hebben onderzocht. Met de elektronenmicroscopie ziet men inderdaad in de HCl-secreterende cel een overvloedig endoplasmatisch reticulum met smalle tubuli zoals bij de beschrijving van de Keys-Willmercel werd vermeld. Ook werden morfologische veranderingen in de cel waargenomen bij de zuursecretie en bij de activering van deze secretie. Nochtans vertoonden bij fixatie niet alle cellen eenzelfde uitzicht. Door SEDAR en FRIEDMAN (1961) werd elk verschil in uitzicht geïnterpreteerd als een onderscheiden fase van een HCl-secretie met cyclisch verloop. Ook ITO (1961) observeerde dit morfologisch verschil; hij meende dat daaruit niet mocht besloten worden tot de HCl-secretie door het endoplasmatisch reticulum, zodat ook voor de cellen in de maagmucosa nader onderzoek is gewenst voor wat het mechanisme der secretie aangaat.

VIRABHADRACHARI (1961) bestudeert aan de hand van de lichtmicroscopie, bij *Etropplus maculatus* (Teleostei) de structuurverandering in kieuw- en darmepitheel en in de nier, tijdens een reeks overplaatsingen van zoet water in zeewater. Voor de chloride-cel in het kieuwepitheel neemt hij de veranderingen waar, reeds gemeld voor andere soorten: volume-toename van de cel, intenser korreling

van het cytoplasma en ontstaan van een apicale vacuool. In het darmweefsel wordt vooral waargenomen de toename in grootte van de celkernen en de toename in aantal van de bekercellen. In de cellen van de nierbuisjes zet zich pigment af rond de kern; de buisjes zelf, het lumen daarin en de wandcellen worden kleiner in diameter. Vooral het kleiner worden van de glomeruli vindt de auteur merkwaardig. Deze grootte-afname ziet hij aan als een gevolg van een verminderde nierfiltratie; de celverandering als een aanwijzing van verschil in fysiologische activiteit. Het morfologisch systeem voor deze verandering in grootte was reeds vroeger ontdekt door SJÖSTRAND en RHODIN (1953) en RHODIN (1954), die in de proximale nier-tubuli van muizen, de basale ontplooiing van de celmembraan hadden waargenomen. PEASE (1955, 1956) in zijn onderzoek op ratten, neemt de basale plooien van de celmembraan waar in de niertubuli, maar ook in het klier-vormend epitheel van de speekselklier en de andere organen die in aanmerking komen voor watertransport doorheen de celmembraan. Daar het patroon van deze plooien en de manier waarop zij aansluiten op het aanliggend weefsel verschillend zijn, besluit PEASE (1956) dat deze specialisaties eerder als analoog dan wel als homoloog moeten aangezien worden.

HALLY (1960) maakt voor het kliervormend epitheel onderscheid tussen granulaire en hydro-ionische secretie. Aansluitend bij het hierboven vermeld onderzoek van PEASE (1956) benadrukt hij dat de secretie van de "hydro-ionische cellen" kan verschillen in fysiologische samenstelling: het watergehalte kan hoog zijn als in de exocriene zweetklieren, ofwel is er een hoog ionengehalte als in de kliercellen van de maagwand. Deze hydro-ionische cellen meent hij gemeenschappelijke kenmerken te mogen toekennen: talrijke mitochondrieën, endoplasmatisch reticulum met gladde tubuli en gespecialiseerde celmembraan. Kunnen de Keys-Willmercellen met deze hydro-ionische cellen vergeleken worden?

D e z o u t k l i e r e n b i j m a r i e n e v o g e l s
e n r e p t i e l e n

Onder de klieren met hydro-ionische secretie rangschikt HALLY (1960) ook de zout- of neusklier van de zeevogels. In 1959 publiceert Knut

SCHMIDT-NIELSEN de resultaten van zijn omvangrijke studie. Volgt hier een kort overzicht van deze studie.

Zeevogels drinken aanhoudend zeewater. De zoutconcentratie in hun bloed is 1 % lager dan het derde van het zoutgehalte van zeewater. De nieren, eenvoudiger gebouwd dan bij de *M a m m a l i a*, elimineren een zoutoplossing van ten hoogste twee procent. SCHMIDT-NIELSEN (1959) ontdekte dat de neusklier vlug en in een hoog-geconcentreerde oplossing het zout-exces als "zout-tranen" excreteert.

Experimenteel diende hij door maag-tubage grote hoeveelheden zee-water toe aan zeemeeuwen. De vogels werden er niet ziek van; de urine-secretie nam toe, doch bevatte maximaal 2 % zout. Het opgevangen neusvocht was een zoutoplossing van 5 % en bevatte in een hoeveelheid gelijk aan $\frac{2}{3}$ van die van de urine, meer dan 90 % van de opgenomen zouthoeveelheid. De zoutconcentratie van dit zoutklier-vocht was het dubbel van die van zeewater, het vijfvoud van die van het bloed.

Bij microscopisch onderzoek blijkt de zoutklier een complex vertak buisjessysteem te bevatten en een netwerk van bloedcapillairen. De buisjes secreteren de zoutoplossing die door tegenstroomdialyse uit het bloed wordt opgenomen. Deze tegenstroomdialyse gelijkt aan die in de nieren van de *M a m m a l i a*; in de nieren van de *R e p t i l i a* is ze niet aanwezig; bij de vogels is ze zeer weinig ontwikkeld. De hoge concentratie van het afgescheiden vocht volgt uit de structuur van de zoutklierbuisjes en van de cellen waaruit de buisjes zijn samengesteld.

Onder de elektronen-microscoop blijken de cellen van de zoutklierbuisjes gestructureerd als de cellen van de nierbuisjes der *M a m - m a l i a*, echter met nog dieper doordringende basale plooien. De cellen van de zoutklierbuisjes pompen natrium en chloride naar buiten tegen de osmotische gradiënt in; waarschijnlijk zijn de mitochondria daarbij betrokken voor de nodige energieproductie.

De zoutklier elimineert behalve een spoor kalium, enkel water, natrium en chloride. Haar functie is dus : zoutexcretie, dit in tegenstelling met de nier, die een meer ingewikkelde regulatorische rol vervult.

Al is de functie van de zoutklier beperkt tot Na- en Cl-secretie, de hoeveelheid geëlimineerd zout is zeer groot, zodat deze klier in hoge mate het zoutregelend orgaan is voor de zeevogels.

Knut SCHMIDT-NIELSEN (1959) trof deze zoutklier aan bij al de door hem onderzochte zeevogels, namelijk de meeste zeevogels uit de verschillende geografische gebieden.

Bij m a r i e n e r e p t i e l e n - de schildpadden nl. - vond de auteur zoutklieren dicht bij het oog gelegen. Hij noemt de overeenkomst des te meer opvallend doordat bij de schildpad het verschil in lokalisatie schijnt te wijzen op een verschil in oorsprong van de zoutklier.

In een derde, onafhankelijke evolutielijn vond hij de zoutklier aanwezig, nl. bij *Amblyrhynchus cristatus*, de mariene leguaan der Galapagos-eilanden, de enige ware zeehagedis. Bij mariene slangen en krokodillen zijn kopklieren gevonden; de functie daarvan is niet voldoende onderzocht.

Bij mariene zoogdieren blijkt de zouteliminatie uitsluitend langs de nieren plaats te hebben en dit in voldoende mate.

Knut SCHMIDT-NIELSEN (1959) meent te mogen aannemen dat de zoutklier zich enkel heeft ontwikkeld bij vogels en reptielen, van wie de nieren geen geconcentreerde urine kunnen produceren; deze zoutklier vertegenwoordigt bij mariene vogels en reptielen een specifiek klierweefsel voor extrarenale zoutexcretie.

DUNSON en WEYMOUTH (1965) bestuderen de zoutregeling bij de zoetwaterschildpad *Trionyx spinifer*. Naast zoutopname door de voeding menen zij een actieve natriumopname te kunnen vaststellen van af een verdunde oplossing van 5 micromoles per liter. Zij lokaliseren deze zoutopname in de villi van het farynx-epitheel; dit farynx-epitheel vertegenwoordigt voor deze schildpad ook een orgaan voor waterademhaling. Op grond van histologisch onderzoek met de elektronenmicroscopie vergelijken DUNSON en WEYMOUTH dit farynx-epitheel met membranen van de amfibieën waarin actief transport van mineralen werd gelokaliseerd nl. de huid van de kikker en de urineblaas van de pad.

De rectale klier bij de Chondrichthyes of kraakbeenvissen

Wanneer KEYS en WILLMER (1932) meenden een verband te mogen zien tussen de zoutexcretie langs de kieuwen en de aanwezigheid van de acidofiele cellen in de kieuwen van de paling, konden zij soortgelijke cellen niet waarnemen bij de hondshaai, *Scyliorhinus canicula*. Zoals in de inleiding vermeld, had H. SCHMIDT (1931) aangetoond dat ook bij *Elasmobranchii* extrarenale zoutexcretie moet bestaan. J.W. BURGER en W.N. HESS (1960) konden deze extrarenale zoutexcretie bij *Squalus acanthias* e.a. *Elasmobranchii* lokaliseren en wel in de rectale klier.

Het secreet, door een katheter-buis rechtstreeks uit de rectale klier opgenomen, blijkt isosmotisch te zijn met plasma, bevat hoofdzakelijk NaCl en wel in een concentratie dubbel zo groot als in plasma. De som van water en zout door de rectale klier en als urine uitgescheiden, benadert de hoeveelheden aanwezig in zeewater. BURGER en HESS konden niet aantonen dat de zoutoplossing door de rectale klier gesecreteerd, ook langs de anus wordt afgegeven; het leek hun echter onwaarschijnlijk dat er zo onmiddellijk na elkaar actieve excretie en reabsorptie zouden plaats hebben. Hun experimenten en metingen bevestigen de gegevens van H. SCHMIDT (1931) betreffende de hypertoniciteit van het bloed en de hypotoniciteit van de urine t.o.v. zeewater; dat *Elasmobranchii* niet zo aanhoudend zeewater drinken als de *Teleostei*. Al blijft de vraag open hoeveel water, hoeveel zout worden opgenomen, toch hadden BURGER en HESS voldoende gegevens om te besluiten dat de rectale klier het specifiek orgaan is voor de zouteliminatie bij de door hen onderzochte *Elasmobranchii*. Door verder onderzoek op *Squalus acanthias* kon J.W. BURGER (1962, 1965) de zoutregeling door de rectale klier bevestigen en in vergelijking met de nierfunctie nader omschrijven.

DOYLE (1960) maakt een vergelijking tussen de epithelen waaraan een zoutregelende functie wordt toegekend: de zoutklier van de mariene vogels, de chloride-cellen in de kieuwen van de beenvissen en de rectale

klier bij de *E l a s m o b r a n c h i i* .

R.E. BULGER (1963) onderzoekt de ultrastructuur van de rectale klier bij *S q u a l u s a c a n t h i a s* . In hoofdzaak bestaat de rectale klier evenals de zoutklier van de mariene vogels uit een complex systeem van klierbuisjes. Bij de secretorische cellen is de membraan basaal en ook lateraal geplooid, zodat de cellen fijn-vingervormig in elkaar grijpen. Apicaal vertoont de cel microvilli die in het buislumen uitmonden. Het cytoplasma bevat vele mitochondria, in dichte karakteristiek gevormde groepen gespreid over de cel en tussen de basale plooien; uiterst apicaal zijn er geen. Het endoplasmatisch reticulum met gladde en met oneffen tubuli, ligt in kleine ophopingen in het cytoplasma. Het reticulum met gladde buisjes ligt vooral in de apicale zone en sluit aan bij de cel-membraan; dicht bij de kern ligt het Golgi-apparaat. Vele blaasjes verschillend in diameter zijn aanwezig, doch de auteur aarzelt ze te erkennen; het zouden doorsneden kunnen zijn van de membraanplooien of van het endoplasmatisch reticulum. Het cytoplasma bevat zeer veel kleine korrels van allerlei afmetingen en ook multivesiculaire lichaampjes. De kern is vrij onregelmatig van vorm en sluit meerdere nucleoli in. Bij al de onderzochte exemplaren bleek er een groot verschil te zijn wat betreft het aantal en de schikking van de organellen. Deze structuurvariaties werden niet kwantitatief bestudeerd; als oorzaak ervan zou mogelijk zijn hetzij een faseverschil in de secretiecyclus, hetzij een technische of andere onbekende invloed tijdens het onderzoek.

Uit deze morfologische studie besluit R.E. BULGER (1963) dat de cel van de rectale klier in structuur overeenkomt met deze van de gespecialiseerde weefsels voor ion- en watertransport. Het kenmerk van de membraanplooien is zelfs in hogere mate aanwezig. Fysiologisch bewerkt de aanwezigheid van ureum en ook de hypertoniciteit van het bloed wel een verschil in het excretiemechanisme van de rectale klier tegenover het mechanisme van de zoutklier bij de vogels. Voor de rectale klier is er geen tegenstroomdialyse met het bloed zoals in de zoutklier.

CHAN en PHILLIPS (1966) bestudeerden bij *S q u a l u s a c a n t h i a s* L. embryo's van 20 tot 170 mm. lengte. Van de kleinste embryo's af konden zij de rectale klier herkennen.

Door een histologisch en histochemisch onderzoek bevestigen CHAN en PHILLIPS (1967) de structuur en de functie van de rectale klier voor de liphaai *Hemiscyllium plagiolum* (Bennett).

DOYLE (1962) maakt een vergelijkende studie van de rectale klier bij de elasmobranch *Urolophus* en van de nasale zoutklier van de zeemeeuwen. FÄNGE en FUGELLI (1962, 1963) vergelijken de rectale klier van *Selache maxima* met die van *Chimaera monstrosa*. Zoals bovengenoemde *Elasmobranchii* heeft *Selache maxima* een enkelvoudige rectale klier, in de vorm van een cilindrisch aanhangsel van het rectum. Bij *Chimaera monstrosa* - tot de *Holocephali* behorend - is de rectale klier niet enkelvoudig; ze bestaat uit een twaalfstal kliertrosjes die gelegen zijn in de darmwand en elk afzonderlijk daarin uitmonden langs een afvoerkanaaltje. De structuur van de klierbuisjes en van de secreterende cellen is als die van de *Elasmobranchii*, al zijn de buisjes kleiner en onregelmatiger geschikt in de kliertrosjes. Het bloed van *Chimaera monstrosa* is volgens meting door FÄNGE en FUGELLI (1963) isosmotisch met zee-water; de concentratie van ureum is lager, die van natriumchloride aanzienlijk hoger dan voor de *Elasmobranchii* werd vermeld. De auteurs menen de rectale klier van *Chimaera monstrosa*, naar analogie met die van de *Elasmobranchii*, een beperkte capaciteit voor zoutsecretie te moeten toekennen.

Deze auteurs analyseerden ook het bloed van *Myxine glutinosus*, de zeeprik. Volgens het resultaat van dit onderzoek en door de gegevens uit de literatuur beoordelen zij voor wat aangaat de osmoregulatie, de positie van *Chimaera* als intermediair tussen de *Elasmobranchii* en de *Cyclostomata*. Zij constateren dat anatomisch niet-homologe organen eenzelfde zoutregelende functie kunnen vervullen.

DOYLE en GORECKI (1961) vermelden voor *Urobatus* en *Squalus* in het kieuwweefsel cellen met het uitzicht van Keys-Willmercellen: Ze hebben een kenmerkend tubulair endoplasmatisch reticulum dat aansluit op de talrijke mitochondria; deze cellen liggen ver-

spread in het kieuwepitheel en in het subepitheliaal weefsel. De twee genoemde *E l a s m o b r a n c h i i* hebben een functionele zoutsecreterende rectale klier. De aanwezigheid van de acidofiele cellen in de kieuwen van deze *E l a s m o b r a n c h i i* is voor DOYLE en GORECKI (1961) en ook voor HOLLIDAY en PARRY (1962) een argument te meer om de zoutsecreterende functie van de Keys-Willmercellen te betwijfelen.

A a r d e n l o k a l i s e r i n g v a n h e t a c t i e f i o n e n t r a n s p o r t

Volgens KOCH en KROGH (1936), KOCH (1938a) en later meer precies door USSING (1950, s.d.) kan van actief transport gesproken worden telkens een ionentransfer doorheen een levende membraan plaats heeft tegen de concentratie-gradiënt en tegen de kracht van een elektrisch veld in. Onder dit aspect is het actief ionentransport te onderscheiden van de diffusie, die afhankelijk is van de permeabiliteit van de membraan en van de concentratie van het omringend milieu.

Experimenteel is dit actief ionentransport reeds vroeger aangetoond. KROGH (1937a) bewijst bij *R a n a e s c u l e n t a* een actieve zoutabsorptie doorheen de gehele huid. KOCH en KROGH (1936) en KOCH (1938a) tonen aan dat bij de larven van *C h i r o n o m u s* en *C u l e x* de actieve zoutabsorptie gelokaliseerd is in de anale papillen. Voor *C h i r o n o m u s* werd bovendien aangetoond dat de integumenten van deze zoetwatersoort doorlaatbaar zijn voor zouten; de actieve absorptie langs de anale papillen compenseert dit zoutverlies en tevens het zoutverlies langs de urine.

De osmoregulatie door ionentransport werd verder besproken door KOCH (1934, 1938b), KROGH (1937b, 1938); SCHLIEPER (1958) onderzoekt de fysiologie der brakwaterdieren. Vroegere experimenten van KEYS (1931 a, b) betreffende de actieve zoutexcretie in hypertonisch milieu, werden hierboven reeds vermeld. Dit onderzoek werd hernomen door SCHLIEPER (1933).

Bij de studie der actieve zoutregeling ging de aandacht aanvankelijk naar het chloride-ion. SCHLIEPER (1933) interpreteert het actief transport in de kieuwen van de paling als een specifieke chloride-rege-

ling van het bloed.

LIU (1942, 1944) echter stelt zich de vraag of de chloridecellen in de kieuwen enkel chloride-secreterend zijn. In een eerste onderzoek (1942) bekomt hij bij *Macropodus opercularis* een hypertrofie van de chloridecellen, door de vissen te plaatsen in NaCl-oplossingen met stijgende concentratie. Tijdens een tweede onderzoek in 1944 in dezelfde experimentele voorwaarden maar nu met Na_2SO_4 -oplossingen, zijn de Keys-Willmercellen in aantal en in grootte minder toegenomen dan tijdens het eerste onderzoek, maar toch is de toename nog duidelijk ten overstaan van de celgrootte der controle-dieren uit zoet-water. LIU (1944) besluit dat de Keys-Willmercellen geen specifieke activiteit hebben voor de chloride-ionen; en dat in afwezigheid van Cl de osmotische gradiënt wordt behouden door SO_4 . Hij beschouwt de Keys-Willmercellen als de anatomische basis voor de hypertonische excretie, doch acht verder onderzoek noodzakelijk voor de bevestiging van zijn hypothese.

Het ionentransport wordt door USSING (1949, 1953) nagegaan op de geïsoleerde kikkerhuid. Door middel van radioactieve tracers en vlamspectrometrische natrium-analysen werd de aard en de hoeveelheid der ionen vastgesteld in verschillende experimentele voorwaarden. Om actief van passief transport te onderscheiden werden de elektrische potentialen met micro-elektroden geregistreerd. Zo ontstond de hypothese van actief Na-transport doorheen de levende membraan, waardoor een potentiaalverschil tussen de twee zijden van de membraan ontstaat. Uit dit potentiaalverschil zou het chloride-transport passief resulteren. Het geregistreeerde netto-ionentransport, ter hoogte van de levende kikkerhuid, zou volgens USSING (1950) voortspruiten uit het verschil tussen outflux en influx van Na-ionen.

KOCH (1965) merkt op dat het concept "actief transport" thans vrij algemeen gebruikt wordt om elke doorgang van stoffen aan te duiden doorheen een grenslaag tegen een electro-chemisch potentiaal in. Oorspronkelijk (KOCH en KROGH, 1936) noemde hij actief transport het transport van minerale ionen doorheen een levende epitheel-membraan, tegen een concentratie gradiënt in, zoals de doorgang van chloride-en alkali-ionen vanuit het uitwendig milieu naar het hypertonisch bloedplasma. KOCH (1965)

benadrukt dat dit transport dat hij nu "transcellulair actief transport van minerale ionen" noemt, plaats heeft doorheen het epitheel van gespecialiseerde organen en wel doorheen één laag epitheelcellen, zodat de ionen zich verplaatsen doorheen twee celmembranen.

Het actief ionentransport wordt beïnvloed door farmacologisch actieve stoffen. KEYS en BATEMAN (1932) perfuseerden een kieuwpreparaat van *Anguilla anguilla*. Adrenaline had een vasodilatator-effect op de kieuw; de chloride-secretie werd grotendeels geremd, waarschijnlijk als gevolg van een verhoogde permeabiliteit van de kieuw. Pittressine daarentegen scheen de chloride-secretie niet te beïnvloeden.

KOCH, EVANS en SCHICKS (1953) verkregen door het gebruik van basische kleurstoffen een inhibitie van het mineraal transport in de geïsoleerde kieuw van *Eriocheir sinensis* M. Edw. Het effect was reversibel; zure kleurstoffen beïnvloedden de absorptie niet. KOCH (1954 a, b) kon met een suspensie van kieuwweefsel van *Eriocheir sinensis* M. Edw. cholinesterase-activiteit aantonen: 1 g vers kieuwweefsel kon 43 mg acetylcholine hydrolyseren. Dit cholinesterase uit de kieuw van *Eriocheir* wordt geïnhibeerd door basische kleurstoffen; zijn beïnvloeding door zure kleurstoffen is gering. Het bloed van de krab bevat ook een cholinesterase dat geïnhibeerd wordt door dezelfde basische kleurstoffen evengoed als door andere inhibitoren van cholinesterase. Wanneer het bloed uit de kieuw is geperst, behoudt die kieuw cholinesterase-activiteit. De hierboven gemelde inhibitorische werking van de basische kleurstoffen zou te verklaren zijn door hun anticholinesterase-eigenschappen.

Ingevolge verder onderzoek meent KOCH (1954b) te moeten besluiten dat cholinesterase aanwezig is in de oppervlaktelaag van het kieuwepitheel van de krab en dat dit cholinesterase betrokken is bij het actief ionentransport in dit kieuwepitheel. Bovendien toont hij aan dat cholinesterase ook een belangrijk aandeel vertegenwoordigt van het mechanisme voor Na-transport in de anale papillen van de insektenlarve *Chironomus plumosus*. KIRSCHNER (1953) toonde aan dat een enzyme, behorend tot dezelfde groep, bijdraagt tot het Na-transport in de kikkerhuid. Reeds vroeger was gekend de werking van acetylcholineste-

rase bij het overdragen van zenuwimpulsen op de eindplaat in spieren, bij synaptische overdracht (FESSARD en POSTERNAK, 1950); de werking van acetylcholine en cholinesterase op de hartspier van vertebraten en invertebraten (KRIJGSMAN, 1952); het beïnvloeden van de ciliaire beweging bij *Mytilus* (BÜLBRING, BURN & SHELLEY, 1953). KOCH (1954 a) suggereert de idee dat deze gespreide mechanismen zouden teruggaan tot eenzelfde grondactiviteit op cellulair niveau en wel tot een actief transportverschijnsel voor bepaalde functies in werking gesteld in hypertrofische voorwaarden.

FLEMING en KAMEMOTO (1963) zetten *Fundulus kansae* over vanuit leidingswater naar een oplossing 0,60 M NaCl in leidingswater en omgekeerd. De Na-outflux wordt gemeten, het homogenisaat van de pseudobranchie wordt onderzocht, de weefselstructuur van kieuw en nevenkieuw van de proef- en van de controle-dieren wordt vergeleken. Als resultaat noteren zij dat de cellen van de pseudobranchie geen cholinesterase bevatten; dat in de kieuw cholinesterase is gespreid over het kieuwepitheel en die spreiding niet beperkt is tot de basis van de kieuwlamellen. De Na-outflux daalde tot een minimum in 4-5 u na het overzetten van 0,60 M NaCl in leidingswater. In de Keys-Willmercellen werden met de elektronenmicroscopie geen duidelijke veranderingen waargenomen, tenzij 20 u na het overzetten. FLEMING en KAMEMOTO (1963) komen tot een negatieve gevolgtrekking: Gezien de rol van cholinesterase bij actief Na-transport enerzijds en gezien anderzijds dat cholinesterase in de pseudobranchie niet voorkomt en er zich histologisch geen veranderingen voordoen samen met de daling van de Na-outflux, zouden de Keys-Willmercellen in de kieuwen niet in verband staan met de zoutexcreterende activiteit aan de gehele kieuw toegekend.

De auteurs vermelden niet hoe zij de spreiding van het cholinesterase over het kieuwepitheel bij *Fundulus kansae* hebben vastgesteld. Ook hier dient het oordeel van MORRIS (1960) geciteerd: Het blijft een cruciaal punt te weten of de acidofiele cellen in kieuw en nevenkieuw identisch zijn. HOUSTON en THREADGOLD (1963) menen dat betreffende de functie van de chloride-cel nog geen definitief antwoord kan gegeven worden. Al spreken THREADGOLD en HOUSTON (1964) in een verdere

studie zich uit voor een verband tussen chloride-secretie en Keys-Willmercellen, toch formuleren deze auteurs hun bevindingen betreffende de chloride-secretie als een hypothese en niet als een definitief antwoord.

Eindelijk moet worden vermeld dat volgens GINETSINSKII, VASIL'EVA, ZAKS, NATOCHIN en SOKOLOVA (1964) de Keys-Willmercellen, histochemisch onderzocht, zich zouden onderscheiden van de gewone epitheelcellen van de kieuwen, door een hoog gehalte aan succinodehydrogenase.

Ook dit vertegenwoordigt geen bewijs dat de Keys-Willmercellen tussenkomen in ionensecretie.

Hoofdstuk 4

VERHOUDING TUSSEN MIGRATIE EN MINERALE REGULATIE BIJ DE VISSSEN

M i g r a t i e v a n p a l i n g e n z a l m

Vele migrerende vissen, zoals paling en zalm, hebben een jarenlange levens- en voortplantingscyclus. Zij brengen de opeenvolgende fasen van hun levenscyclus door in geografisch-verschillende milieus en wel zo dat de individuen van de op elkaar volgende generaties van één soort, telkens terugkeren naar het milieu geëigend voor een bepaalde fase.

Voor de Europese paling (*A n g u i l l a a n g u i l l a L.*) duurt de voortplantingscyclus 8 tot 15 jaar. Dit blijkt uit de werken van BERTIN (1935, 1951), CREUTZBERG (1961), CURTIS (1956), FROST (1945), GILSON (1908), LAGLER e.a. (1962), SINHA en JONES (1966), VAN HEUSDEN (1943). De ontdekkingen met betrekking tot de fasen van deze cyclus kunnen genoteerd worden als volgt :

De Italiaan REDI (1684) observeert de migratie van de paling naar zee in de maand augustus, en vanaf einde januari tot april het opstijgen van de jonge aaltjes van zee uit naar de stroommondingen.

In 1777 beschrijft MONDINI de ovaria van de paling, maar er verloopt nog honderd jaar vooraleer de Pool SYRSKI (1874) de mannelijke voortplantingsorganen ontdekt bij individuen van gemiddelde grootte. De mannetjes bereiken nl. een maximumlengte van ± 40 cm; de wijfjes worden tot 1 m lang.

In 1856 beschrijft de Duitser KAUP de *L e p t o c e p h a l u s b r e v i r o s t r i s* als afzonderlijke soort. Veertig jaar later tonen twee Italianen : GRASSI (1896), GRASSI & CALANDRUCCIO (1897) aan dat deze *L e p t o c e p h a l u s* de larvaire vorm is van de paling en dat de larve metamorfoseert tot de glasaal die de rivieren opzweemt.

In 1909 vangt de Deen Johs. SCHMIDT de eerste leptocephaluslarve buiten de Middellandse Zee. Zijn groots oceanografisch onderzoek, voortgezet tot in 1925 en gepaard aan een nauwkeurige biometrische studie,

voornamelijk van het wervelaantal en van de larve-grootte, doet Johs. SCHMIDT besluiten tot de soorteenheid van de Europese paling (*Anguilla anguilla* L.) en tot de eenheid van voortplantingsgebied voor deze soort, nl. de Sargassozee (SCHMIDT 1909, 1925 a, b).

Johs. SCHMIDT onderscheidt echter in het genus *Anguilla* twee Atlantische soorten: *Anguilla anguilla* L., de Europese paling en *Anguilla rostrata* Lesueur, de Amerikaanse soort: deze laatste met een voortplantingscyclus als die van de Europese soort, alhoewel de *Leptocephalus*-fase slechts één jaar duurt tegenover drie jaar bij de Europese paling. Johs. SCHMIDT (1925 b) situeert het voortplantingsgebied van *A. rostrata* Lesueur in de Sargassozee. VLADYKOV (1964) brengt argumenten naar voren voor een meer zuidwaarts gelegen voortplantingsgebied voor *A. rostrata* Lesueur.

Ingevolge eigen onderzoek en door de gekende gegevens komt SCHMIDT (1925 a) tot de hypothese van het passief afdrijven van de *leptocephalus*-larve met de Gulfstream naar de Europese zeekust. Daar pigmenteert de glasaal, trekt de rivieren op en groeit verder, als gele paling, in brak water (meestal mannetjes) of in zoet water (bijna uitsluitend wijfjes). Als zilverpaling trekt hij terug naar zee.

Volgens SINHA en JONES (1966) zouden mannetjes en wijfjes-palingen samen voorkomen, zowel in zoet water als in brakwater. Het geslacht is echter niet te bepalen bij palingen met een lengte van minder dan 18 cm. Voor grotere palingen is de determinatie slechts mogelijk door microscopisch onderzoek. Ook blijkt het zg. orgaan van Syrski, met het voorkomen van een testis, zich te kunnen differentieren tot een ovarium. Mannetjes en wijfjes hebben daarbij een ongelijke groei; ook verschilt voor de beide geslachten de verblijfsduur in zoet of in brak water zodat bij de naar zee migrerende dieren de kleinere exemplaren mannetjes zijn (tot 50 cm); de grotere, wijfjes (tot 1 m).

Bij vele migrerende vissen gaat de overgang van zoet water naar zee en omgekeerd gepaard met een opvallende metamorfose.

Bij de paaitrek, die aanvangt bij toenemende geslachtsrijping, kenmerkt *Anguilla anguilla* L. zich door de omvor-

ming van gele paling tot zilverpaling. Voor paling berekende FROST (1945) de lengte-gewicht verhouding. Bij de overgang van gele- naar zilverpaling werd een discontinuïteit in lengte- en gewichtstoename vastgesteld. Eveneens karakteristiek voor de zilverpaling is de vergroting van de ogen en de wijziging in de vorm van borstvinen en onderkaak.

Al is het niet met zekerheid bekend dat de volwassen Europese paling de Sargassozee bereikt en al werden andere logische verklaringen van de vaststaande feiten naar voren gebracht door TUCKER (1959), toch pleit er een sterk geheel van argumenten ten voordele van de geniale interpretatie van Johs. SCHMIDT (D'ANCONA 1959, 1960, JONES 1959b, DEELDER 1960, FONTAINE 1961, BRUUN 1963). Op grond van haemoglobine polymorfisme bij de Amerikaanse zoetwaterpalings weerleggen SICK e.a. (1967) de theorie van TUCKER (1959) als zouden de Europese en Amerikaanse palings een genetisch homogene populatie vertegenwoordigen en dus tot eenzelfde soort behoren. Welke ook de theorie weze die overeenstemt met de werkelijkheid, hetgeen hier moet besproken worden blijft in elk geval onveranderd.

In tegenstelling met de zeewaartse migratie van de volwassen paling die katadroom verloopt, is de migratie van de Atlantische zalm (Salmo salar L.) anadroom. In de werken van ALLEN (1941, 1944), CURTIS (1956), HUNTSMAN (1942, 1945 a, b), JONES (1959a), MALIKOVA (1959) LAGLER e.a. (1962) is de migratie genoteerd als volgt : De volwassen individuen trekken van zee uit tegen stroom in naar de bovenloop van rivieren in bergstreken om er hun eieren af te zetten.

Na vier maanden komen de eieren uit. De jonge zalmen noemt men parr. Tot in het midden van de vorige eeuw werd de parr beschouwd als een afzonderlijke soort, verschillend van de zalm (JONES 1959a, p. 3). Van bruin met zwarte vlekken wordt deze jonge zalm door guanine-afzetting op de schubben zilverkleurig en wordt dan smolt genoemd. De smolt trekt naar zee.

Het tijdstip van de parr-smolt omvorming is afhankelijk van de temperatuur en verschilt dus naargelang de geografische ligging van de bewoonde rivier. In het algemeen geldt : Hoe verder naar het noorden, hoe langer het parr-stadium duurt.

Voor de Atlantische zalm (*Salmo salar* L.) valt de zeewaartse migratie samen met de omvorming van parr tot smolt (HOAR 1953, HUNTSMAN 1945, JONES 1959 a, KOCH 1959, 1962, FONTAINE 1964). Bij deze metamorfose wisselt de jonge zalm niet alleen de kenmerkende parr-vlekken met een zilverkleur, als smolt wordt hij ook slanker van lichaamsbouw. HOUSTON en THREADGOLD (1963) berekenden de gewicht-lengte verhouding uitgedrukt in g/cm; voor parr, de overgangsvorm zilverparr en voor smolt zijn de coëfficiënten respectievelijk 1,063, 1,009 en 0,949. HOAR (1939) kwam in zijn uitgebreide studie tot gemiddelden van dezelfde grootte-orde. Wordt de smolt op het tijdstip van de migratie weerhouden in zoet water, dan verkrijgt hij het parr-uitzicht enigszins terug (KOCH 1962).

ALM (1934) deelt mede dat de smolt in het zuiden van Zweden migreert voor 60-70 % bij het begin van het derde, voor 40-30 % bij het begin van het vierde of vijfde levensjaar; dat voor de populaties van het noorden van Zweden de migratie plaats heeft bij de aanvang van het zesde of zevende jaar.

Ook het tijdstip van de terugkeer uit zee voor de paaitrek verschilt voor de onderscheiden populaties.

Na het afleggen van eieren sterft de zalm meestal. Slechts 1-2 % - in sommige bekkens 7-8 % - overleeft de voortplantingsperiode. Deze "kelt"-zalm drijft stroomafwaarts naar zee.

Van de zalmen zijn ook niet-migrerende populaties bekend, de zgn. relict-zalmen : de zalmen van het Vänern-meer, een der grootste meren in Zweden die overbleven na de ijstijd; de zalmen van de Namsen-stroom in Noorwegen, stroom waarvan de bovenloop van de benedenloop gescheiden is door een 40 m-hoge waterval. Deze laatste zalmen kunnen naar zee, maar niet terug voor de reproductie. De relictzalmen blijken minder trekinstinct te vertonen en een tragere groei (BERG 1953, JONES 1959a, KOCH 1962).

Voor de relict-zalmen van de Namsen-stroom in Noorwegen noemt BERG (1953) het karakteristiek dat ze meestal hun heel leven door het parr-uitzicht bewaren en bij de paaitrek een lichte verkleuring naar geel vertonen.

Onder de relict-zalmen dient bijzonder vermeld de "Blege" of dwerg-zalm. DAHL (1927) bestudeerde de Blege's van Bygglandsfjord, een groot meer uit Noorwegen aan de Otra-rivier. Uit geologische gegevens berekent hij dat deze zalmen een 9.000 jaar geleden zijn geïmmigreerd in het meer, toen in open verbinding met de zee. De dwergzalmen hebben de typische kenmerken van de Atlantische zalm (*Salmo salar* L.) behouden, maar bereiken slechts de maximale lengte van 30 cm. De volwassen dieren hebben het uiterlijk voorkomen van smolts.

Van de Pacifische zalmsoorten maken *Oncorhynchus kisutch* (HOAR 1951, 1953) en *O. nerka* een soortgelijke metamorfose door als de Atlantische zalm; *O. keta* en *O. gorbuscha* vertonen de parr-smolt-metamorfose niet (BAGGERMAN 1960).

Osmoregulatie bij het migreren

De ± uitgesproken metamorfose op het tijdstip van de migratie heeft niet alleen een morfologisch, doch ook een fysiologisch en biochemisch aspect.

Voor *Anguilla anguilla* L. stelde het probleem zich als volgt : Als zilverpaling voedt het dier zich niet, of althans weinig (FROST 1945); extra-intestinaal kan de paling geen zouten absorberen (KROGH 1937b). De demineralisatie in zoet water zou de migratie noodzakelijk maken (FONTAINE en CALLAMAND 1941, BLACK 1951b). Bij proefdieren in hun laboratoria dachten FONTAINE en CALLAMAND (1943, 1948) dat paling bij aankomende geslachtsrijpheid een deshydratatie van zijn spierweefsel zou ondergaan en terzelfdertijd hoe langer hoe minder chlo-riden in zijn bloedplasma zou bezitten. Om deze relatie te karakteriseren gebruikten zij de "gonosomatische index" (G.S.I.) zoals S. BOUCHER-FIR-LY (1935) die berekende, d.i. honderdmaal de verhouding van het gewicht der gonaden tot het lichaamsgewicht.

KOCH (1949) vergelijkt gele paling uit zoet water met zilverpaling uit zeewater. De bloed- en spierweefselstalen werden, voor beide groepen, in Denemarken ter plaatse genomen. De totale osmotische druk en het chlo-ridegehalte van het bloed werden niet merkbaar beïnvloed door de graad

van geslachtelijke rijpheid (uitgedrukt in G.S.I.). Het watergehalte in het spierweefsel was verminderd, doch dit ten gevolge van een toenemende vetophoping in de spieren; voor de hydratatiegraad is maatgevend de verhouding, niet van het totaal gewicht aan weefsel, maar van de hoeveelheid stikstof erin bevat tot de hoeveelheid water; deze verhouding bleef ongewijzigd. Bij het experimenteel overbrengen van deze wijffjes-palingen vanuit zoet water naar zeewater en omgekeerd, bleven, na adaptatie van de proefdieren, diezelfde waarden voor bloed en spierweefsel nagenoeg behouden. KOCH (1949) meent te mogen besluiten dat bij de wijffjespaling de regulatie-capaciteit weinig of niet verminderd wordt tijdens de beginnende sexuele rijping op het tijdstip van de migratie naar zee. Daar bij de zil-verpalingen het chloride-gehalte van het bloedserum lichtjes lager lag dan bij de gele palingen, acht de auteur het mogelijk dat het evenwicht moeilijker te behouden blijft voor zilverpaling dan voor gele paling. Ten gevolge van zijn histochemisch onderzoek treedt COLOMBO (1960, 1961) dit laatste besluit bij, zoals in hoofdstuk I werd vermeld.

De regelingscapaciteit zoals ze zich voordoet bij paling, geldt niet voor alle migrerende vissen (FONTAINE 1948, KOCH 1949). *Gasterosteus aculeatus* L. bezit een extrarenaal regelingsmechanisme dat in twee richtingen werkt: zoutabsorptie in zoet water (KROGH 1937b), zoutexcretie in zeewater (HEUTS 1942). Uit het onderzoek van KOCH en HEUTS (1943) blijkt dat in de geslachtsrijpe periode dit regelingsmechanisme sterk vermindert; de bovengrens der saliniteit van het uitwendig milieu is 23 ‰ NaCl; bij een hoger pro mille stijgt het chloridegehalte in het bloed naarmate de uitwendige concentratie stijgt.

Bij het overzetten van zeewater naar zoet water (BLACK V. 1948) past *Fundulus heteroclitus* zich vlug aan. In 24 u zijn gewicht en dichtheid weer normaal, doch het chloride-verlies blijft aanhouden. Teruggeplaatst in zeewater wordt dit chloride-tekort ingewonnen en wel in een tijdsverloop van 6 u. De auteur kan dit verschil in snelheid van verlies en opname van zouten niet verklaren.

HOUSE (1963) toont het osmoregulatorisch vermogen aan van de brakwaterbeenvis *Blennius pholis*. Als bewoner van riviermondingen is deze vis in zijn natuurlijke omgeving blootgesteld aan gro-

te wisselingen in saliniteit. In experimentele voorwaarden, door middel van Na^{24} als tracer en door het meten van electrisch potentiaal kon HOUSE (1963) aantonen : actieve excretie van Cl bij dieren geadapted aan 150, 100 en 40 % zeewater; actieve absorptie van Cl in 10 % zeewater; actieve excretie en absorptie van Na respectievelijk in 40 en in 10 % zeewater.

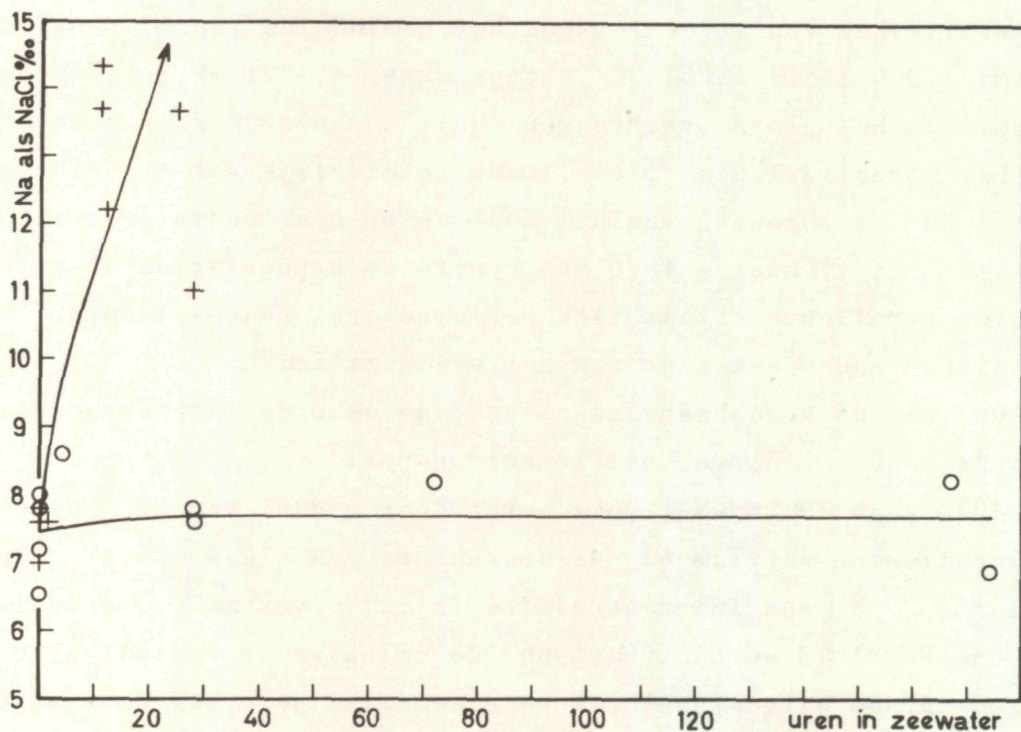
MAETZ en CAMPANINI (1966) onderzoeken het euryhaliniteitsmechanisme bij *Anguilla anguilla* L. Zij meten in vivo het potentiaal verschil tussen het bloed in de kieuwen en het water waarin de dieren verblijven. Voor zeewater was het gemiddelde voor 7 proefdieren : $+ 18 \text{ mV} \pm 2,9$; bij verblijf in zoet water : $- 21 \text{ mV} \pm 1,5$ voor 10 proefdieren. Bij het plots overbrengen van uit zeewater naar zoet water verandert het potentiaal niet plots, maar geleidelijk van $+ 15/18$ naar $- 40/55$ mV; bij het overbrengen van uit zoet water naar zeewater verloopt de meting van $- 15/17$ naar $- 10/0$ mV. Hyper- en hypopolarisatie zijn tijdelijk; in beide gevallen herstelt zich het evenwicht na enkele uren, wanneer de proefdieren aangepast zijn aan het nieuw milieu.

Ook bij de kraakbeenvissen wordt de osmoregulatiecapaciteit onderzocht door het meten van het ionentransport.

BURGER en TOSTESON (1966) meten door middel van Na^{22} de absorptie en excretie van natrium bij de doornhaai, *Squalus acanthias*. Na een intramusculaire injectie van Na^{24} , respectievelijk Cl^{36} , meten MAETZ en LAHLOUH (1966) de urinaire en rectale excretie langs de kieuwen. De uitgewisselde hoeveelheden blijken bij de kraakbeenvissen geringer te zijn dan bij de beenvissen.

Gedurende de laatste vijftien jaren zijn, met betrekking tot osmoregulatie en migratie, de *Salmonidae* veelvuldig bestudeerd, o.a. *Oncorhynchus* sp. door HOAR (1953), door V. BLACK (1951) en door BAGGERMAN (1960); *Salmo gairdneri* door HOUSTON (1959), door GORDON (1963) en door CONTE en WAGNER (1965). PARRY (1960) maakt voor het genus *Salmo* bij verschillende species en voor de onderscheiden ontwikkelingsfasen van elk species een vergelijkende studie van hun regelingscapaciteit. Zij noteert hoe lang de vissen bij het overbrengen van zoet- naar zeewater overleven en volgt door de methode van de vriespuntverlaging, de bloedconcentratie tijdens de expe-

REGULATIE-CAPACITEIT VOOR NATRIUM



Regeling in natrium-gehalte van het bloed, in de parr- en smolt-fase, bij de Atlantische zalm (*Salmo salar* L.). Veranderingen in de natriumconcentratie van het bloed na het plots overbrengen van de proefdieren vanuit zoet water (6,3 °C) naar vol zeewater (6,3 °C), mei 1959.

+ parr, twee jaar oud ;

o smolt, twee jaar oud.

volgens H.J. KOCH, J.C. EVANS en E. BERGSTROM (1959)

rimenten. Uit de tijd die verliep vooraleer er terugkeer was tot de normale bloedconcentratie besloot zij tot een gradatie in regelingscapaciteit gradatie waarbij *S a l m o s a l a r* staat boven *S. g a i r d - n e r i* en *S. t r u t t a*.

HUNTSMAN en HOAR (1939) constateren dat de Atlantische zalm (*S a l - m o s a l a r L.*) in het parr-stadium niet weerstandig is tegenover zeewater. FONTAINE en VIBERT (1952) onderzoeken de saliniteit van de zalm-rivieren.

MORRIS (1956) bestudeert *L a m p e t r a f l u v i a t i l i s L.* Deze cyclostoom heeft een osmoregulatorisch mechanisme als de Teleostei. In het kieuwepitheel bezit hij grote acidofiele cellen die in structuur en ligging gelijken op de Keys-Willmercellen (MORRIS 1957). Tijdens de paaitrek in zoet water worden deze Keys-Willmercellen vervangen door andere kleinere cellen (MORRIS 1958); tegelijk schakelt de osmoregulatie over van hypotonisch naar hypertonisch. MORRIS (1960) stelt de vraag of de Keys-Willmercellen chloride-secernerend zijn en de vervangelen chloride-absorberend.

R e v e r s i b i l i t e i t v a n h e t z o u t r e g e l e n d v e r m o g e n

KOCH, EVANS en BERGSTRÖM (1959) onderzochten bij de Atlantische zalm (*S a l m o s a l a r L.*) tijdens de parr- en smoltfase de natriumregulatie in het bloedplasma. Het experiment had plaats in Zweden. Bij een temperatuur van 6,3° C werden de zalmen vanuit het zoet water waarin ze leefden plots overgebracht in natuurlijk zeewater ($\text{NaCl} \pm 28 \text{ ‰}$) van dezelfde temperatuur (6,3° C). De zalmen in de parrfase, twee jaar oud, stierven alle binnen de 26 uren; die in de smolt-fase daarentegen, bleven alle in leven, zowel de één- als de tweejarige. Bij levende exemplaren werd bloedplasma genomen en in hoeveelheden van 10 μ onderzocht op het natrium-gehalte; dit door middel van vlamspectrofotometrische microanalyse. Bij de parr was de natriumconcentratie zeer snel gestegen; bij de smolt bleef gedurende de dagen die volgden op het overzetten, de natriumconcentratie ongeveer constant. De resultaten van het

experiment werden in curve gebracht (plaat II); het gedoseerde Na is omge-rekend in NaCl 0/00 . De jonge zalmen in de overgangsfase van parr naar smolt bleken bij plots overzetten naar zeewater minder zoutregelingsver-mogen te bezitten dan de smolts.

KOCH en EVANS (1962) herhalen het hierboven beschreven experiment op *Salmo salar* L. , respectievelijk op gekweekte zalmen en op zalmen uit de vrije natuur. In de lente constateren zij bij de kweek-zalmen, alnaar de streken, grote verschillen in frequentie en in graad van de parr-smolt-metamorfose. Deze factoren nemen toe met de leeftijd van de zalmen en dit toenemen gaat samen met een verhoging in zoutrege-lingscapaciteit.

Kweekzalmen in de smoltfase, die het in de lente verdragen plots in zeewater te worden overgebracht, verliezen, zoze weerhouden worden in zoet water, dit vermogen tijdens de herfst (november). Bij het overzetten in zeewater op dit tijdstip van het jaar, loopt de natriumconcentratie in hun bloed snel op en ze gaan dood met een hoge natremie evenals de parr, waarop ze ook morfologisch terug zijn gaan lijken. In de volgende lente komt het zoutregelend vermogen weer tot ontwikkeling (KOCH 1962). De ree-lictzalmen blijken grotendeels hun regulatievermogen te hebben bewaard.

Op grond van de vele experimenten, besluiten de auteurs tot wat zij noemen : de reversibiliteit van het zoutregelend vermogen bij de zalm (KOCH en EVANS 1962, KOCH 1962). Ook stellen KOCH, EVANS en BERG-STRÖM (1959) vast, dat het regulatievermogen bij de zalm volkomen tot ontwikkeling komt in zoet water, zonder voorafgaand contact met zeewater.

In aansluiting hiermede menen HOUSTON en THREADGOLD (1963) dat de snelle omschakeling bij de smolt van hyperosmoregulatie in zoet water naar hyporegulatie in zeewater, een aanduiding kan zijn van een premi-gratorische wijziging van het water-elektrolyten-metabolisme, en het in gang zetten van een extrarenale elektrolyten-secretie. De auteurs onder-zoeken bij de smolt de waterdistributie tussen de extra-cellulaire en de cellulaire fase van het spierweefsel; dit als criterium van de osmore-gulatie. Op grond van gegevens uit de literatuur en van persoonlijk on-derzoek (HOUSTON 1960; THREADGOLD en HOUSTON 1961, HOUSTON en THREADGOLD

1963) besluiten de auteurs tot de mogelijkheid van de gestelde premigato-rische wijziging en benadrukken zij de noodzakelijkheid de rol van de Keys-Willmercellen nader te onderzoeken.

CONTE en WAGNER (1965) onderzoeken of er bij jonge zeeforellen (*Salmo gairdneri*) een verband bestaat tussen lengtegroei en regulatiecapaciteit. Vanaf november 1962 tot september 1964 zetten zij elke maand een reeks zalmen over vanuit zoet water naar vol zeewater.

Uit het aantal vissen dat in leven blijft gedurende de dertig dagen volgend op het overzetten en uit de bloedconcentratie van deze vissen besluiten de auteurs tot regulatiecapaciteit. Zij stellen vast dat in de vijf groepen op de lengte geselecteerde dieren, de mortaliteit vrij algemeen is bij de zalmen van 7-9 cm; dat over het algemeen de overlevings-duur stijgt met de toenemende lengte en dat voor alle groepen de regulatiecapaciteit cyclisch verloopt. De euryhaliniteit is het grootst onmiddellijk vóór de migratieperiode. Na deze periode worden de zalmen vlug stenohalien. De auteurs vermelden ook dat de zalmen van 19 cm lengte en meer, indien ze weerhouden werden in zoet water, na de migratieperiode hun euryhaliniteit verloren, en in de loop van het experiment nochtans tweemaal metamorfoseerden van parr tot smolt.

McINERNEY (1964) constateerde dit cyclisch verloop van de regulatie capaciteit bij vijf species van de Pacific-zalmen.

F y s i o l o g i s c h a s p e c t v a n d e m i g r a t i e

Nadat de aandacht gevestigd was op het feit van de migratie en de weg hierbij gevolgd was gekend, zijn meerdere factoren besproken geworden welke de trek zouden veroorzaken en beïnvloeden.

Ongeveer tegelijkertijd stellen FONTAINE en CALLAMAND (1941) en anderzijds KOCH (1942) de vraag naar een mogelijk verband tussen de wijziging in osmoregulatie bij de vissen en de migratie welke die vissen ondernemen in bepaalde stadia van hun ontwikkeling. Alhoewel de opvatting van de auteurs fundamenteel gelijkaardig is, toch is gedeeltelijke divergentie aanwezig.

FONTAINE en CALLAMAND (1941, 1943, 1948) werken de idee uit voor

paling (*A n g u i l l a a n g u i l l a L.*). Zij komen tot de veronderstelling dat bij de paling de migraties zouden veroorzaakt zijn door stoornis in het hydro-mineraal evenwicht. De glasaaltjes zouden namelijk tengevolge van de deshydratatie bij de metamorfose, het zoet water binnenzwemmen; de zilverbaling zou door demineralisatie fysiologisch genoodzaakt zijn naar zee te trekken. FONTAINE (1943, 1948) breidt deze studie uit en stelt daarbij de vraag in hoever de stoornis in dit hydro-mineraal evenwicht endocrien wordt beïnvloed.

KOCH (1942) bouwt een hypothese op betreffende de migratie van vissen in het algemeen en stelt een fundamenteel feit vast dat ten grondslag ligt aan de grote migraties van deze dieren : al deze migraties zijn verplaatsingen in een gradiënt van saliniteit; de dieren waarbij deze migraties zijn waargenomen beschikken over een osmotischen mineraal regelingsmechanisme waardoor zij in hun inwendig milieu een gelijkmatige concentratie behouden tegenover een hypertonisch of hypotonisch uitwendig milieu. Indien bij het intreden van de geslachtsrijpheid door hormonale beïnvloeding een wijziging zou ontstaan in dit regelingsmechanisme, zou ten gevolge daarvan de beschouwde soort zich verplaatsen naar een in saliniteit verschillend milieu.

Experimenteel werd die hypothese getoetst op *G a s t e r o s t e u s a c u l e a t u s L.* (HEUTS 1942, KOCH en HEUTS 1943). Op het ogenblik van de geslachtsrijpheid onderging het regelingsmechanisme een grondige wijziging, zodat de stekelbaars geen zeewater meer verdragen kon. Op het tijdstip van de paaitrek deed zich een ontwikkeling in volumen voor van de thyroïdklier (KOCH en HEUTS, 1942). Door toedienen van schildklierhormoon op een tijdstip buiten de paaitrek, ontstond een gelijkaardige wijziging in het regelingsmechanisme als tijdens de paaitrek zelf. De concentratie van het inwendig milieu, in normale omstandigheden onafhankelijk van de omgeving, wordt hiervan sterk afhankelijk onder invloed van het schildklierhormoon; dit schildklierhormoon, toxisch in zeewater, is dit niet in zoet water.

Het schildklieronderzoek werd door velen toegepast : Op *A n g u i l l a a n g u i l l a L.* door FONTAINE en CALLAMAND (1943); op verscheiden *S a l m o n i d a e* door FONTAINE en OLIVEREAU (1947), HOAR

en BELL (1950), HOAR (1952, 1953), HOAR, MACKINNON en REDLICH (1952), FONTAINE, LELOUP en OLIVEREAU (1952), FONTAINE en LELOUP (1962), FONTAINE (1964).

Door hun persoonlijk biochemisch onderzoek en in vergelijking met het onderzoek van FONTAINE en CALLAMAND (1943) op paling, achten KOCH en HEUTS (1943) het mogelijk dat er een causaal verband bestaat tussen de migratie en de cyclische wijzigingen in de schildklierwerking. Die wijziging in hormonaal evenwicht, welke een verandering in zoutregulatie teweegbrengt, zou kunnen inwerken op systemen voor de relatie met de omgeving, o.a. op het neuro-musculair systeem, dat de actieve verplaatsing voltrekt.

FONTAINE en LELOUP (1962) onderzochten de schildklierwerking bij drie groepen van Franse zalmen (*S a l m o s a l a r L.*) : geslachtsrijpe zalmen die in maart-april vanuit de zee de rivier optrekken; zalmen uit de bovenloop van de rivier op het ogenblik van de reproductie in december-januari; "mended-zalmen" (Angelsaksische term, equivalent van de Noorse term "kelt-zalmen") die na de reproductie, in februari-april terug naar zee gaan.

Het gehalte aan hormonaal jodium in het bloedplasma werd aangezien als maatgevend voor de schildklierwerking. Dit jodium-gehalte was hoog bij de zalmen die de rivier opzwemmen; het daalde tot op de helft bij de zalmen op het tijdstip van de reproductie, tot op een vierde bij de mended-zalmen.

De auteurs zien de schildklierwerking eerder in verband met de spieractiviteit bij het zwemmen. Ook FONTAINE en LELOUP (1959) brachten de verhoogde schildklierwerking bij de smolt in verband met het tegenstroom-in-zwemmen.

Na een aanpassing aan zeewater gedurende 48 uren en een even lang verblijf daarin, deed zich bij de mended-zalm - er was maar één exemplaar beschikbaar - een nieuwe stijging van het jodium-gehalte voor. Ook hier brengen FONTAINE en LELOUP (1962) evenals JONES (1959a) de verhoogde schildklierwerking in verband met de hernieuwde spieractiviteit van de mended-zalm.

Met betrekking tot de migratie werd niet alleen de schildklier ter studie genomen en haar beïnvloeding door de hypofyse (FONTAINE M. en

FONTAINE Y., 1956; Yves FONTAINE en CONDLIFFE, 1963), het gehele neuro-endocrien stelsel werd voorwerp van onderzoek (BURDEN 1956, FONTAINE 1964, JONES e.a. 1965, BUTLER 1966, PARRY 1966, MAETZ & MOREL 1965, MAYER & MAETZ 1967, MOTAIS 1967, MAETZ e.a. 1967). Al kan hier niet worden ingegaan noch op de werktechnieken, noch op de morfologie van de onderscheiden structuren, toch dient de functie van de urohypofyse te worden vermeld.

Meerdere auteurs publiceerden experimentele gegevens betreffende de tussenkomst van de urohypofyse - het caudaal neuro-secretorisch systeem eigen aan de *Telosteii* - voor de osmoregulatie van deze dieren.

ENAMI (1959) werkte op meerdere vissoorten, TAKASUGI en BERN (1962) op *Tilapia mossambica*, MAETZ e.a. (1963, 1964) injecteerden urohypofysair extract bij *Carassius auratus*. Door gebruik van radioactief ^{24}Na - techniek beschreven door MAETZ (1963) - konden zij een verstoring in de osmoregulatie vaststellen, nl. een verhoogde netto Na-opname ter hoogte van de kieuwen en een geringe excretie langs de nieren. In het totaal vertegenwoordigde dit een Na-winst voor het organisme.

MAETZ e.a. (1964) merken op dat deze resultaten bekomen door injectie van vrij grote hoeveelheden extract, niet toelaten de fysiologische rol van de urohypofyse te bepalen. Dit te meer daar urofysectomie met daaropvolgende injectie van urohypofysair extract geen duidelijke, noch intense verandering teweegbracht in de Na-regulatie. De auteurs opperen het voorzichtige besluit dat de urohypofysaire secretie geen beperkende factor voor de osmoregulatie bevat.

D e e l I I

P E R S O O N L I J K O N D E R Z O E K

Hoofdstuk 1

METHODE VAN ONDERZOEK EN GEBRUIKT MATERIAAL

V e r a n t w o o r d i n g e n m e t h o d e v a n o n d e r z o e k

Bij de studie van de osmoregulatie en het ionentransport bij waterdieren was chloride-secretie het eerste aspect dat de aandacht trok (SMITH 1930). Stelt zich het probleem van de minerale regulatie bij alle vissen, het stelt zich het scherpst bij de soorten die gekenmerkt zijn door een ontogenetische migratie.

Aangezien bij de beenvissen het zoutgehalte van hun bloedplasma bij benadering constant is (FREDERICQ 1882, BOTTAZZI 1908) dienen de migrerende vissen een mechanisme te bezitten voor de hypotonische minerale regeling in zeewater, voor de hypertonische regeling in zoet water.

Vertegenwoordigen nu - overeenkomstig de hypothese door KEYS en WILLMER (1932) gesteld - de naar hen genaamde cellen de anatomische basis van de extra-renale zoutexcretie die HOMER SMITH (1930) bij enkele *Telosteii* ontdekte en KEYS (1931) in de kieuwen van deze vissen lokaliseerde?

Zoals blijkt uit de literatuurgegevens (Deel I) leidde het onderzoek van de Keys-Willmercellen - dat tot nog toe louter kwalitatief werd doorgevoerd - niet tot een definitief antwoord.

We hebben getracht het probleem op een nieuwe wijze te belichten door het kwalitatief, maar vooral kwantitatief onderzoek van de kieuwen van twee migrerende vissen: de Europese paling (*Anguilla anguilla* L.) en de Atlantische zalm (*Salmo salar* L.).

Bij deze vissen hebben we de Keys-Willmercellen bestudeerd in de verschillende ontwikkelingsstadia van deze soorten, vooreerst bij verblijf in hun natuurlijk milieu. Meer bijzonder werd nagegaan hoe deze zelfde cellen reageerden in structuur en in aantal wanneer de dieren onder experimentele omstandigheden, bij eenzelfde temperatuur, plots werden

overgebracht vanuit zoet water naar vol zeewater of omgekeerd. Bij paling werd een kwetsuurexperiment doorgevoerd.

Daarenboven werd gezocht naar het verband tussen de kwalitatieve en kwantitatieve veranderingen in de Keys-Willmercellen en de minerale regulatie die, in de gegeven omstandigheden, min of meer intens in werking was getreden in het bloedplasma van deze *T e l e o s t e i*.

G e b r u i k t m a t e r i a a l

Gele paling, *A n g u i l l a a n g u i l l a L.* uit zeewater vormt het uitgangspunt van deze studie. Meerdere reeksen palingen werden in de loop van 1963, 1964, en 1965, met een fijnmazig kruisnet gevangen aan de Noordzeekust, nl. te Oostende in de haven, in de Spuikom, en te Zeebrugge.

Te Klemskerke-Noordheide (1963) en te Doel (1965) werden palingen gevangen in brak water. Enkele exemplaren kwamen uit zoet water, nl. uit de vaart te Schoten en uit een beek te Ekeren (1963, 1965).

Glasaaltjes, gevangen aan de monding van de Teems, werden verkregen door bemiddeling van de Organisatie ter Verbetering van de Binnenvisserij in Nederland, en dit via de Viskwekerij te Valkenswaard (17.4.65).

Van palingen en glasaaltjes werden per reeks enkele exemplaren ter plaatse gefixeerd; de overige, nog levende dieren, werden voor verder onderzoek overgebracht naar Leuven en in de aquariumzaal van het Laboratorium voor Zoöfysiologie geacclimatiseerd, deels in zeewater, deels in leidingswater.

Glasaaltjes, gevangen in brak water bij de Spuisluis van Den Helder en ter plaatse gefixeerd, werden ons toegezonden op 30.4.65 door het Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee.

Voor het onderzoek op de Atlantische Zalm, *S a l m o s a l a r L.* stelde Professor H.J. KOCH zeer waardevol materiaal ter beschikking, nl. twee reeksen zalmen van het kweekstation Hölle in Zweden, die respectievelijk in juni en december 1962 experimenteel overgebracht werden van zoet water naar zeewater (Koch en EVANS 1962); uit de Högvadsån-rivier, een reeks actief-zeewaarts-migrerende zalmen, die in april 1961 experi-

menteel overbracht werden van zoet water naar zeewater; uit dezelfde rivier wilde parr, smolts en stroomafwaarts drijvende kelten; verder in 1964 een reeks zalmen van het Biologische Stasjon te Trondheim in Noorwegen en grote zalmen gevangen in zee aan de Westkust van Zweden, tegenover Falkenberg. Ook relictzalmen kregen wij ter beschikking : uit het Vänern-meer, Zweden; uit de Namsen-stroom, Noorwegen; een reeks "Blege", dwergzalmen afkomstig van de Bygglandsfjord in Noorwegen, gekweekt in het Lax-forskningsinstitutet te Älvkarleö in Zweden en experimenteel overgebracht van zoet water naar vol zeewater. Al de proeven waarbij vissen overgeplaatst werden van zoet water naar zeewater verliepen bij constante temperatuur en zonder temperatuurverschil bij de overgang van zoet water naar zeewater.

Ter vergelijking met deze migrerende soorten werd gewerkt op een zoetwatersoort, de Donauzalm, *H u c h o h u c h o L.*, verkregen door Prof. HUET en gekweekt te Linkebeek in de Hooverstichting van de Universiteit te Leuven. Zeepaling, *C o n g e r c o n g e r L.* uit Ambleteuse, (Pas-de-Calais), verkregen we door Dr. M. QUAGHEBEUR.

O m v a n g v a n h e t o n d e r z o e k

De kieuwen werden bestudeerd bij meer dan 300 exemplaren van de genoemde soorten; van *S a l m o s a l a r L.* en van *H u c h o h u c h o L.* ook de pseudobranchie.

Bij het prepareren gaven ontkalkingsprocédés op korte termijn weinig resultaat. Wel konden totaal preparaten van het kopgedeelte en van het kieuwblad met gunstig gevolg worden gesneden bij jonge exemplaren die geruime tijd in picroformol werden bewaard. Bij grotere exemplaren werden stukjes kieuw met een reeks filamenten onder de binoculaire loupe losgeprepareerd. De pseudobranchie werd in haar geheel uitgesneden. In totaal werden een 5000-tal micropreparaten gemaakt, met daarop ruim 100.000 sneden.

De analyse van het zeewater op het Na- en K-gehalte en de totale zoutconcentratie van het bloedserum van de palingen op het Na-gehalte, konden we zelf verrichten op het laboratorium te Leuven.

Voor de Na-concentratie van het bloedserum van de zalmen stelde Prof. Dr. H.J. KOCH niet-gepubliceerde resultaten van zijn persoonlijk onderzoek ter beschikking; zooook wat betreft de gegevens betreffende lengte, gewicht en geslacht van de zalmen.

De metingen bij de palingen hebben wij zelf uitgevoerd.

A a n g e w e n d e t e c h n i e k e n

- Fixeren : Picroformol volgens BOUIN (LANGERON 1949, ROMEIS 1928, VAN DUYN 1950).
- Ontkalken : Trichloorazijnzuur (MAC CLUNG 1961, ROMEIS 1928).
- Deshydrateren : Methylbenzooat-benzeen voor grote stukken (Mac CLUNG 1961).
Dioxaan voor kleine stukken (ROMEIS 1948, Mac CLUNG 1961).
- Inbedden : Paraffine (MAC CLUNG 1961).
- Snijden : Geserieerde sneden 5 μ (GRAY 1958, STEEDMAN 1960).
MAC CLUNG 1961).
- Kleuren : Test voor mucopolysacchariden :
MASSON-kleuring : hematoxyline, metanilgeel, mucicar-
mijn (POLICARD e.a. 1957, ROMEIS 1948).
Alcianblauw, hematoxyline, neutraalrood (GURR 1960)
Verloop van de bloedcirculatie :
Trichroom naar POLLAK (MAC CLUNG 1961).
- Acidofiele cellen :
Hematoxyline naar WEIGERT - eosine of erythrosine
(LANGERON 1949, MAC CLUNG 1961).
MALLORY-KLEURING (VAN DUYN 1950).
Solochroom Cyanine R (PEARSE 1960).
- Insluiten : Canadabalsem.
Entellan, synthetisch hars in tolueen-oplossing.
Zeiss (insluitmiddel L 25 met brekingsindex $n_D = 1,525$).

Het cytologisch onderzoek werd verricht met een lichtmicroscop Baker en met een Zeiss-microscop voorzien van fasencontrastinrichting.
Kan met de elektronenmicroscop de ultrastructuur der Keys-Willmercellen

onderzocht worden, toch biedt de lichtmicroscoop meer mogelijkheden voor wat aangaat het waarnemen van het aantal der Keys-Willmercellen en van hun ligging tussen het omringend weefsel; en de olieïmmersietechniek biedt ook zekerheid bij het identificeren van de Keys-Willmercel in dunne, selectief gekleurde sneden. Met de fasencontrastmicroscoop zijn de dichtheitsverschillen in de cel goed waarneembaar.

Voor het meten van de celdiameter werd het meetoculair geijkt :

Vergroting 400 : 1 schaaldeel = $2\ \mu$.

Vergroting 1000 : 1 schaaldeel = $0,8\ \mu$.

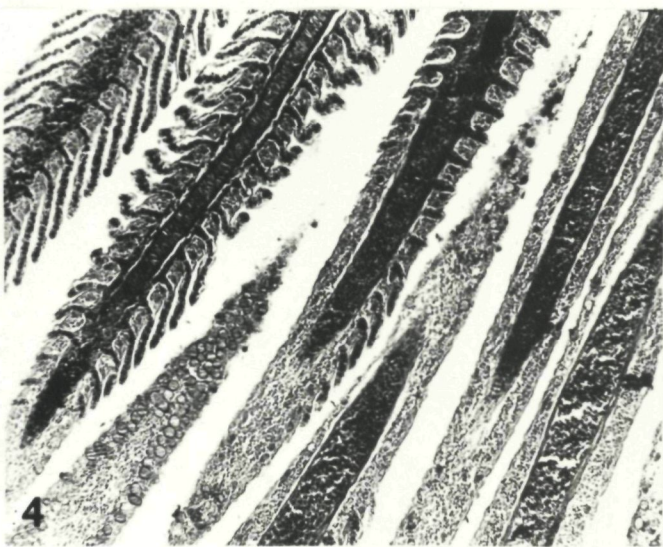
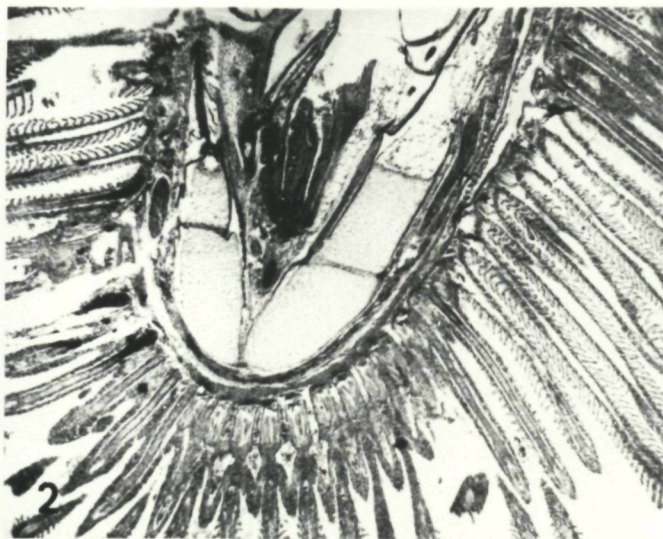
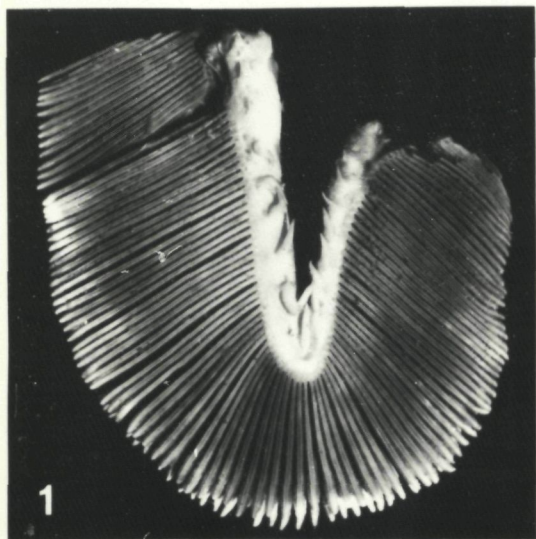
De metingen werden statistisch verwerkt volgens MORONEY (1962) en SIMPSON, ROE en LEWONTIN (1960).

De microfoto's werden genomen op film Pan F-Ilford met Leica M₃.

Het zeewater werd gravimetrisch onderzocht op de totale zoutconcentratie door volledige uitdamping op de temperatuur van 90°. De Na- en eventueel de K-concentratie van het zeewater en van het bloedserum werden vlamspectrofotometrisch bepaald met een "Eel"-Vlam-fotometer (Evans Electroselenium) en omgerekend in NaCl en KCl ‰.

Voor de technische hulp die de heren J. Evans en J. Backx mij boden, respectievelijk bij de Na- en K-analyse en bij het maken van de microfoto's, betuig ik hun hier mijn oprechte dank.

BOUW VAN DE KIEUWEN : KIEUWBLAD



Salmo salar L. Fig. 1. Zalm, lengte 64 cm. Kieuwblad (x1). Fig. 2. Parr, lengte 9 cm. Kieuwblad in horizontale snede (x24). Fig. 3. Smolt, lengte 16,5 cm. Rij kieuwfilamenten in horizontale snede (x100).
Anguilla anguilla L. Fig. 4. Gele paling, lengte 23 cm. Dubbele rij kieuwfilamenten in schuine snede (x80).

Hoofdstuk 2

BOUW VAN DE KIEUWEN BIJ DE BEENVISSSEN

De kieuwstructuur bij de beenvissen, zoals deze kan waargenomen worden met de lichtmicroscoop, werd besproken door verscheidene auteurs : KEYS en WILLMER (1932), LEINER (1938), IHLE (1947), BIJTEL (1947, 1949), BAER (1958), BERTIN (1958), LAGLER, BARDACH en MILLER (1962) e.a.

HUGHES en GRIMSTONE (1965) bespreken de ultrastructuur van de kieuwen op basis van een studie met de elektronenmicroscoop.

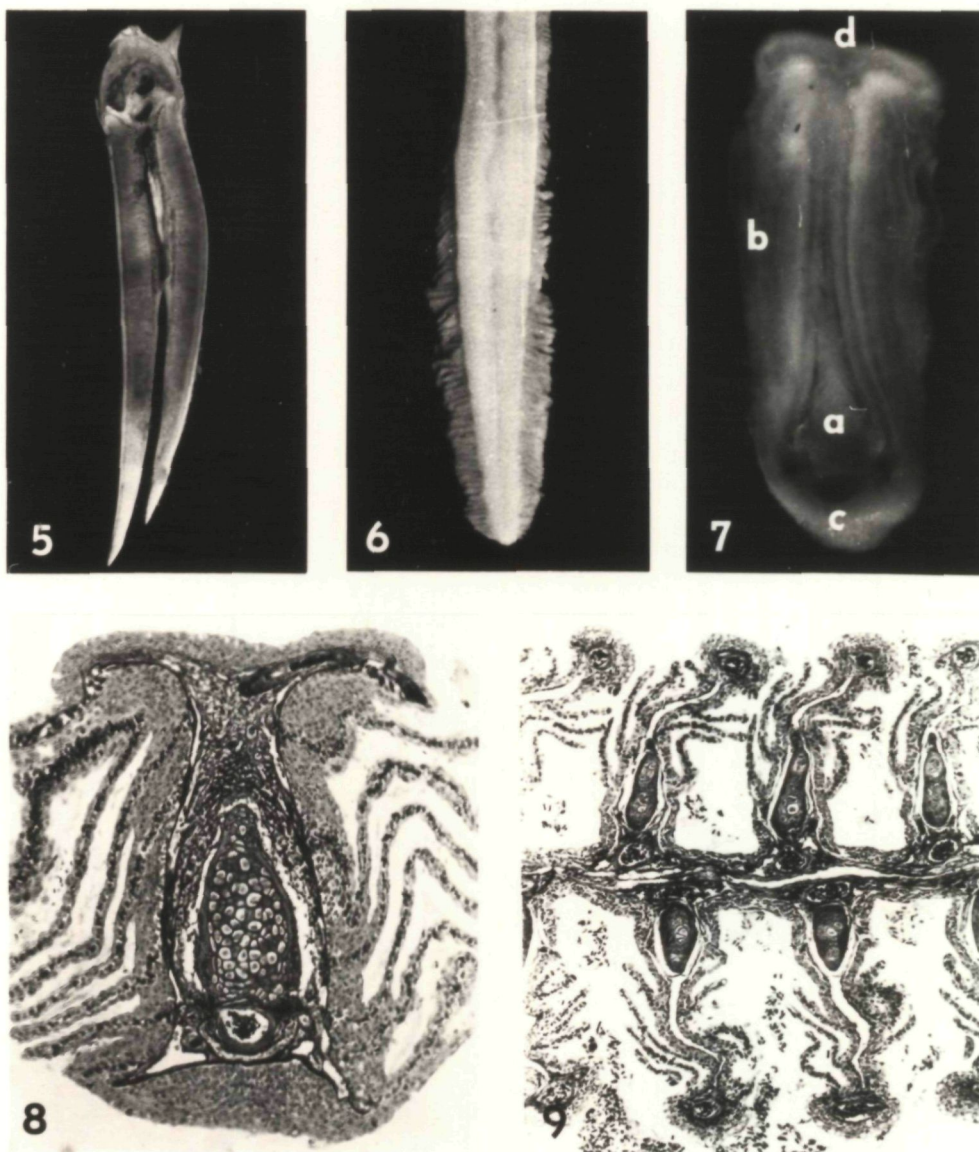
Op grond van de genoemde literatuur en van persoonlijk onderzoek volgt hier een kort overzicht van de kieuwstructuur bij de Europese paling (*Anguilla anguilla* L.), de Atlantische zalm (*Salmo salar* L.) en de Donauzalm (*Hucho hucho* L.).

Paling heeft een kleine kieuwspleet; bij dissectie is het kieuwdeksel gemakkelijk los te snijden. Bij zalm is de kieuwspleet groot en volstaat een kleine insnijding. Klapt men nu het kieuwdeksel om, dan ligt de kieuwholte vrij met daarin de vier kieuwbladen (Plaat X, fig. 27).

B o u w v a n h e t k i e u w b l a d

Een kieuwblad (plaat III, fig. 1) bestaat uit een kieuwboog met daaraan apicaal gericht de uitsteeksels van de kieuwzeef, caudaal gericht twee boven elkaar gelegen rijen filamenten. Op een horizontale, microscopische snede doorheen het kieuwblad (plaat III, fig. 2) bemerkt men de kieuwboog met de steunende kraakbeenelementen, de uitsteeksels van de kieuwzeef insgelijks gesteund door kraakbeen en de waaivormig uitgespreide kieuwfilamenten. Bij sterkere vergroting (plaat III, fig. 3) liggen in een horizontale snede de kieuwfilamenten van een rij regelmatig, bijna evenwijdig naast elkaar. Op een licht-schuine snede (plaat III, fig. 4) zijn de twee rijen kieuwfilamenten getroffen; de filamenten zelf vertonen een verschil in voorkomen, dat wijst op een niet homogene inwendige structuur.

BOUW VAN DE KIEUWEN : KIEUWFILAMENTEN



Salmo salar L. Zalm, lengte 64 cm. Fig. 5. Verticale snede van de dubbele rij kieuwfilamenten (x3).
 Fig. 6. Bovenzicht van een kieuwfilament (x5). Fig. 7. Dwarssnede van een filament (x60) met (a) kieuw-
 straal, (b) kieuwlamellen, (c) aanvoerend en (d) afvoerend bloedvat. Fig. 8. Dwarssnede van een kieuw-
 filament, dikte 5 μ , Pollakkleuring (x80).
 Smolt, lengte 16,2 cm. Fig. 9. Dubbele rij kieuwfilamenten in dwarssnede (x80).

B o u w v a n h e t k i e u w f i l a m e n t

Een vertikale snede door het kieuwblad (plaat IV, fig. 5) toont de kieuwboog met steunend kraakbeen boven de efferente en afferente arteriën en de dubbele rij filamenten aangehecht aan de kieuwboog. Het bovenliggend filament (rechts op de foto) is korter dan het onderliggend filament; beide filamenten zijn aan hun basis onderling verbonden door bindweefsel en door spierweefsel (zie ook plaat IV, fig. 9).

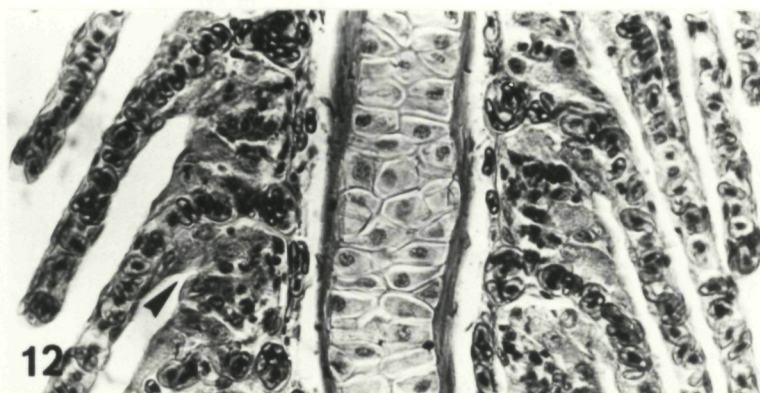
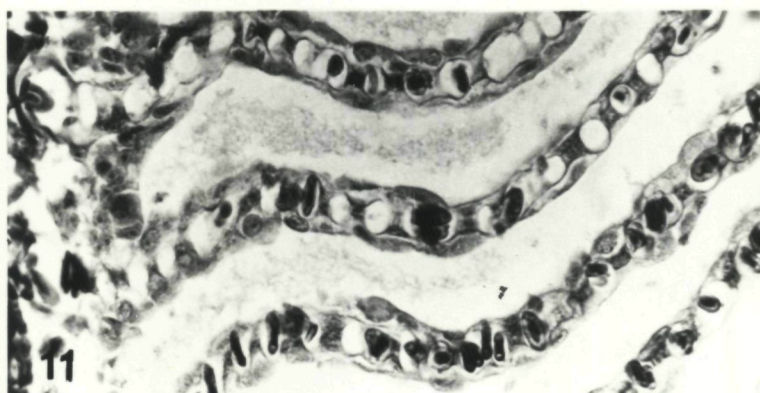
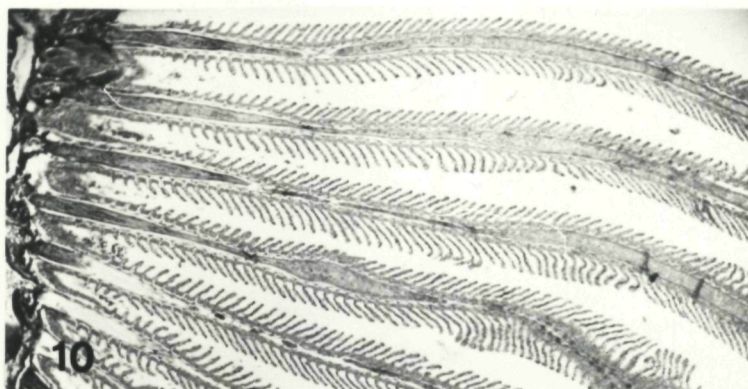
Een kieuwfilament (plaat IV, fig. 6) bestaat uit een kieuwbalk met rechts en links een rij kieuwlamellen. Het gehele kieuwfilament is bekleed met epitheel. Aan boven- en onderzijde van de kieuwbalk is dit epitheel gestrekt en bevat het een groot aantal bekervormige mucuscellen (plaat IV, fig. 9 en het detail van fig. 9 op plaat VIII, fig. 21). Lateraal van de kieuwbalk is het epitheel geplooid, zodat daardoor links en rechts van het filament de rij kieuwlamellen ontstaat.

Over de gehele lengte van het kieuwfilament is de kieuwbalk gesteund door een kraakbeenstaaf, de kieuwstraal (plaat III, fig. 3; plaat IV, fig. 7a, 8, 9). De kieuwstralen liggen met hun brede zijde tegen het aanvoerend bloedvat aan (fig. 7a, 7c); de smalle zijde eindigt in de bindweefselstrook die naar het afvoerend bloedvat loopt (fig. 7d).

Snijdt men zeer precies horizontaal doorheen het kieuwblad ter hoogte van de kieuwstraal (plaat III, fig. 3) dan kan men deze kieuwstraal over de gehele lengte van het filament waarnemen. Bij een licht-schuine snede doorheen het kieuwblad (plaat III, fig. 4) kan men de twee rijen filamenten en de filamenten zelf op verschillende plaatsen treffen, nl. doorheen het epitheel met mucuscellen, doorheen de bindweefselstreng, doorheen de kieuwstraal, doorheen het midden der bloedvaten, doorheen de bloedvaten ter hoogte van de vertakkingen naar de kieuwlamellen.

Al blijft deze grondstructuur van het kieuwfilament behouden gedurende het gehele leven van de vissen, toch treden er verschillen op bij het ouder worden. Bij jonge zalmen bv. is de kieuwbalk afgerond (plaat IV, fig. 9 en het detail op plaat VIII, fig. 21) met het grote bloedvat centraal daarin gelegen. Bij adulte zalmen is de kieuwbalk over gans de lengte $\pm$ ingedeukt (plaat IV, fig. 6, 7, 8); ook is bij dit ouder wordend

BOUW VAN DE KIEUWEN : KIEUWLAMELLEN



Salmo salar L. Fig. 10. Smolt, lengte 18,5 cm. Kieuwfilamenten in lengtesnede ; kieuwlamellen langsheen de kieuwstraal (x30). Fig. 11. Zalm, lengte 64 cm. Kieuwlamellen met duidelijke pilastercellen en bloedlacunes ; erythrocyten in enkele van deze lacunes (x400).

Anguilla anguilla L. Fig. 12. Gele paling, lengte 34 cm. Kieuwfilament : lengtesnede ter hoogte van de kieuwstraal en de kieuwlamellen. Keys-Willmercellen (▲) aan de basis van deze kieuwlamellen.

dier de kieuwbalk meer in de breedte toegenomen dan in de hoogte. Dit verschil in afmetingen van de kieuwfilamenten kan een aanduiding zijn van een geringer activiteit van het dier (HUGHES 1966).

B o u w v a n d e k i e u w l a m e l l e n

Een kieuwfilament draagt links en rechts van de kieuwbalk een rij kieuwlamellen. Op een lengte van 5 mm liggen parallel met elkaar een honderdtal kieuwlamellen (plaat V , fig. 10).

Een kieuwlamel (plaat V , fig. 11) bestaat uit twee lagen vlakke epitheelcellen uit elkaar gehouden door een laag pilastercellen. Deze pilastercellen sluiten op een bijzondere wijze aan elkaar nl. zó dat bloedlacunes ontstaan ter dikte van de rode bloedcellen.

Door waarneming met de elektronenmicroscoop meenden HUGHES en GRIMSTONE (1965) de vorming van een basale membraan door de pilastercellen te kunnen vaststellen, zodat de bloedlacunes pseudocapillairen kunnen genoemd worden.

Bij waarneming met de lichtmicroscoop was steeds de samenhang tussen de pilastercellen waar te nemen, ook al had het bekledend epitheel losgelaten bij minder goede fixatie of door "krimpen" tijdens deshydratatie met alcohol.

Volgens HUGHES (1966) is het uiterlijk voorkomen van de kieuwen kenmerkend voor de activiteit van de beenvissen. Bij vlugge, veel bewegende dieren (paling, plaat V , fig. 12; smolt, plaat III, fig. 3) zijn de kieuwfilamenten lang en dragen zij een groot aantal vrij dicht aaneensluitende kieuwlamellen. Hierdoor wordt evenals door de hoogte van het filament, de totale oppervlakte van de kieuw vergroot en dus de zuurstof-opname verhoogd. Bij trager dieren (H u c h o h u c h o L., plaat VI, fig. 15) zijn de filamenten en de kieuwlamellen korter en liggen deze verder uit elkaar.

Aan de basis van de kieuwlamellen (plaat V , fig. 12) ontdekten KEYS en WILLMER (1932) de "chloride-secreting cells", verschillend van de gewone epitheelcellen.

Hoofdstuk 3

STRUCTUUR EN LIGGING VAN DE KEYS-WILLMERCELLEN

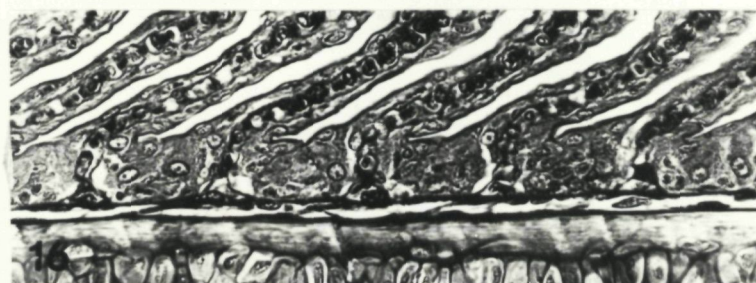
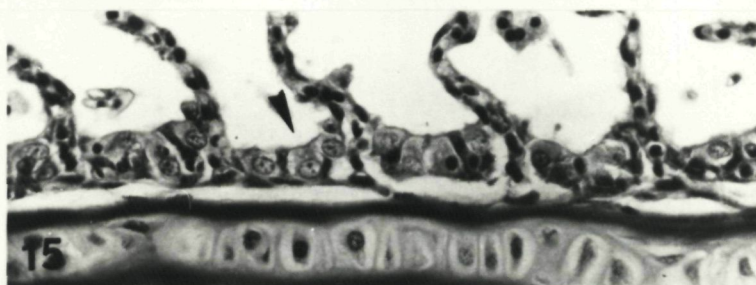
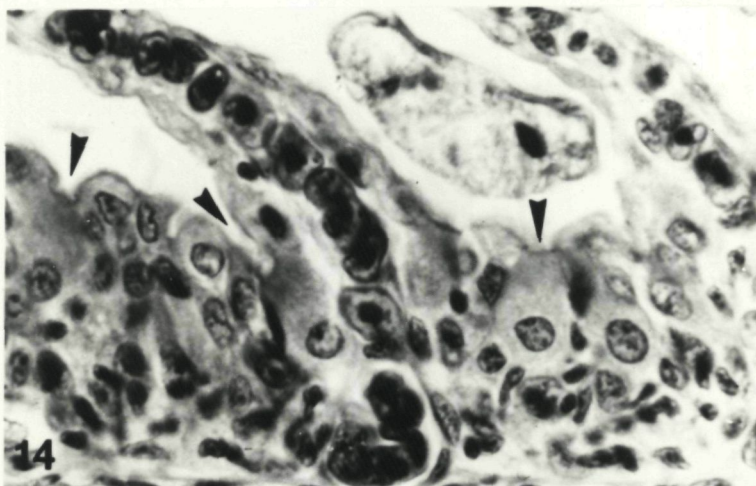
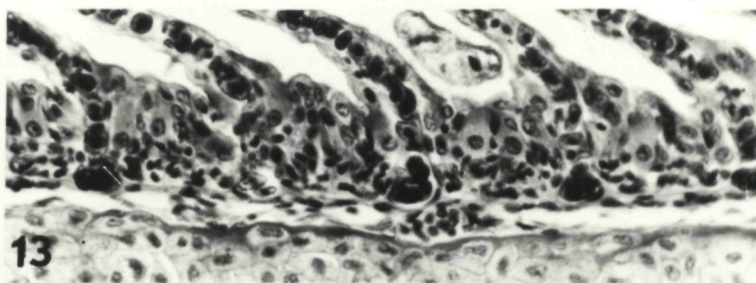
Saliniteit van het natuurlijk milieu
voor *Anguilla anguilla* L.

Bij vangsten van de gele paling werd in de onderscheiden milieus een staal genomen van het water. De diverse zoutconcentraties hiervan zijn opgetekend in onderstaande tabel. Dit in vergelijking met het zoutgehalte van zeewater volgens SCHLIEPER (1955) en met dat van leidingswater te Leuven.

Milieu	Datum	Totaal re- sidu ‰	NaCl ‰	KCl ‰
Zeewater (SCHLIEPER)		35	23.3	0.7
Oostende :				
Havenhoofd	20.9.1963	27.1	20.0	0.57
Haven	20.9.1963	20.0	15.9	0.48
Spuikom	20.9.1963	36.0	24.8	0.78
	20.5.1965	31.8	22.1	0.69
Klemskerke-Noordheide (W-Vl.)	17.8.1963	1.6	0.56	0.02
Doel	22.5.1965	6.5	4.5	
Leidingswater Leuven			0.055	

Deze cijfers hebben slechts een betrekkelijke waarde. De stalen werden genomen in de getijzone; palingen leven in het bodemwater waarvan het zoutgehalte groter is dan dat van het oppervlakte-water. In de Spui-
kom wisselt daarbij de zoutconcentratie ten gevolge van sterke verdamping gedurende de zomer en door regen- en sneeuwval tijdens herfst en winter.

STRUCTUUR VAN DE KEYS-WILLMERCELLEN



Anguilla anguilla L. Gele paling, Haven Oostende. Fig. 13. Kieuwfilament : lengtesnede ter hoogte van de kieuwstraal en de kieuwlamellen (x 400). Fig. 14. Detail van fig. 13 (x 1000). Keys-Willmercellen (zoutwatervorm) met apicale groeve (▲). Fig. 16. Gele paling uit zoet water. Kieuwfilament (x 400). *Hucho hucho* L. Fig. 15. Keys-Willmercellen (▲) zoetwatervorm (x 400).

Ook kon natuurlijk niet worden nagegaan hoelang de palingen reeds in één-zelfde bepaald milieu verbleven.

Structuur van de Keys-Willmercellen

Gele paling uit het zout water genomen werd onmiddellijk gefixeerd. Van willekeurig genomen gedeelten van de vier kieuwbladen werden sneden gemaakt in verschillende richtingen.

De Keys-Willmercellen zijn te herkennen aan ligging, grootte, selectieve kleurabsorptie en karakteristieke structuur. Aan de basis van de lamellen en langs deze oplopend, liggen de grote cellen in één laag gespreid in het epitheel (plaat VI, fig. 13, 14). Bij schuine snede evenwel lijkt het epitheel met de Keys-Wilmercellen gestratificeerd.

De kern is rond en basaal in de cel gelegen. Hoe ook gericht, de kernsnede toont steeds een cirkelvormig beeld, wat duidt op de sferische vorm van die kern. Hematoxyline kleurt vooral de kernwand en de nucleolus donker.

Het korrelig cytoplasma is acidofiel; eosine en meer nog erythrosine kleuren dit cytoplasma rood, alhoewel minder rood dan de erythrocyten erdoor gekleurd worden. Pollak trichroom kleurt de Keys-Willmercellen grijs; Mallory-kleuring maakt ze grijs-paars en duidelijk te onderscheiden van de bijna kleurloze vlakke epitheelcellen.

Deze beschrijving beantwoordt grotendeels aan die van KEYS en WILLMER (1932). Toch moet als zeer opvallend in deze z o u t w a t e r - v o r m worden gesignaleerd de densiteit van de korreling in het cytoplasma en de toename van die densiteit naar de celtop toe. Kenmerkend ook is de apicale groeve, een equivalent van deze in de literatuur, bij de studie met de elektronenmicroscop, genoemd voor andere species, o.a. voor *Anguilla rostrata* (GETMAN 1950), *Fundulus heteroclitus* (COPELAND 1948), *Lebistes reticulatus* (STRAUSS 1963).

Bij verblijf in zeewater zijn de Keys-Willmercellen van *Sa l m o s a l a r* L. (plaat XIII, fig. 35, 36) in uitzicht vrij identisch aan deze van gele paling uit zeewater.

Ook voor zeepaling (*C o n g e r c o n g e r* L.), die een uitsluitend mariene leefwijze heeft, zijn de Keys-Willmercellen zeer gelijkend aan die van gele paling bij verblijf in zeewater.

De vorm van Keys-Willmercellen die het sterkst verschilt met de beschreven zoutwatervorm werd waargenomen bij de Donauzalm, *H u c h o h u c h o* L. Deze zoetwater-salmonide komt voor in de Donau vanaf de bovenloop tot aan de delta (BERG L.S. 1932). Hij behoeft helder water, met een temperatuur beneden 10°, maar trekt niet (SVETINA 1963). Bij plots overbrengen vanuit zoet water naar vol zeewater gingen alle individuen binnen enkele uren dood (Persoonlijke mededeling van Prof. H.J. KOCH). *H u c h o h u c h o* L. bleek dus niet bekwaam zich te handhaven in een sterk hypertonisch milieu.

In de kieuwen tussen de kieuwlamellen en aan de basis van deze laatste zijn acidofiele cellen aanwezig (plaat VI, fig. 15) die het voorkomen hebben van Keys-Willmercellen. De cellen zijn goed gevormd, enigszins kubisch. De kern is helder van uitzicht, basaal gelegen en ze bezit één duidelijke nucleolus, soms twee.

Het cytoplasma absorbeert weinig kleurstof; de korreling ligt gelijkmatig over de cel gespreid. Een apicale groeve werd niet waargenomen.

Bij gele paling uit zoet water (plaat VI, fig. 16) werden wel apicale groeven waargenomen. Ook is de korreling, althans in een gedeelte der Keys-Willmercellen, denser dan bij de Donauzalm.

Ook bij de Atlantische zalm, *S a l m o s a l a r* L., komen Keys-Willmercellen voor in de zoetwatervorm tijdens de parr-fase (plaat VII, fig. 18), maar ook tijdens andere stadia, zoals in hoofdstuk 6 zal worden aangetoond.

A a n t a l e n g r o o t t e v a n d e K e y s - W i l l m e r c e l l e n

Op een exemplaar van de gele paling uit de haven van Oostende werden de cellen geteld en gemeten. Het gemiddeld aantal Keys-Willmercellen per lamellenbasis was 5,04, met een spreiding van 2 tot 9, berekend op honderd lamellenbasissen na elkaar genomen; als preparaat werd hiervoor

gekozen een lengtesnede doorheen het kieuwfilament, ter hoogte van de kieuwstraal (plaat VI, fig. 13, 14).

Om de grootte te bepalen werden bij tien goedgevormde celsneden op willekeurige plaatsen genomen, de kleinste en de grootste celdiameter loodrecht op elkaar, gemeten. De kerndiameter van 6μ vormde het criterium dat de cel op haar grootste doorsnede werd gezien.

Ook voor de Donauzalm werden de cellen geteld en gemeten. Het gemiddeld aantal Keys-Willmercellen per lamellenbasis was 1,65 met een spreiding van 0 tot 4. De kerndiameter is 8μ .

Keys-Willmercellen :	Gele Paling (25 cm) Haven Oostende 31.8.1963	Donauzalm (9,2 cm) Linkebeek 10.10.1962
Kleinste en grootste celdiameter in μ :	10 / 19	10 / 15
	12 / 17	11 / 16
	12 / 18	12 / 13
	10 / 20	13 / 14
	9 / 21	11 / 14
	10 / 21	10 / 17
	11 / 21	12 / 14
	10 / 20	10 / 14
	15 / 16	12 / 13
	12 / 21	12 / 15

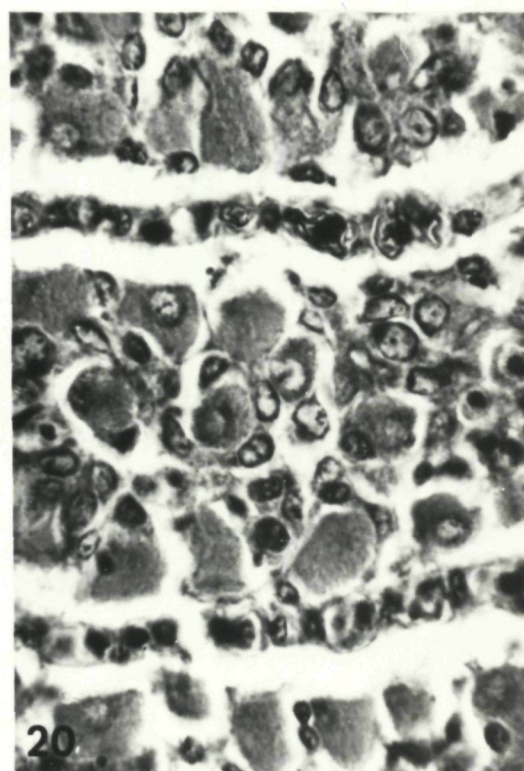
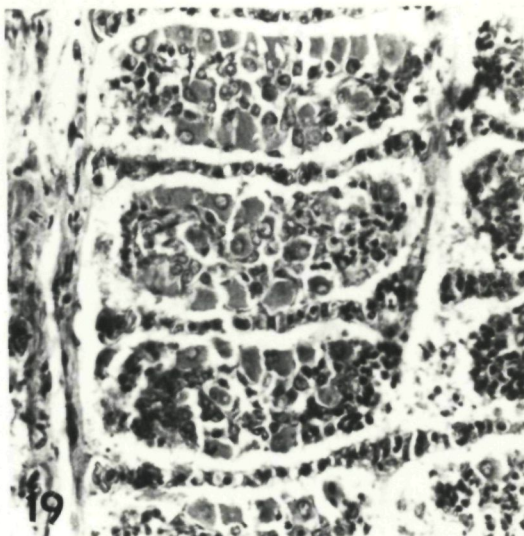
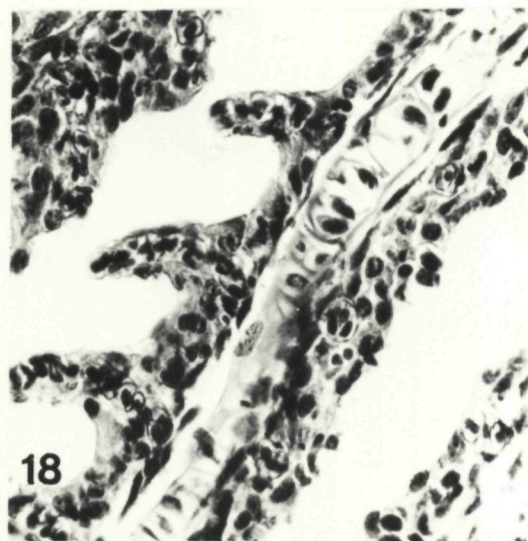
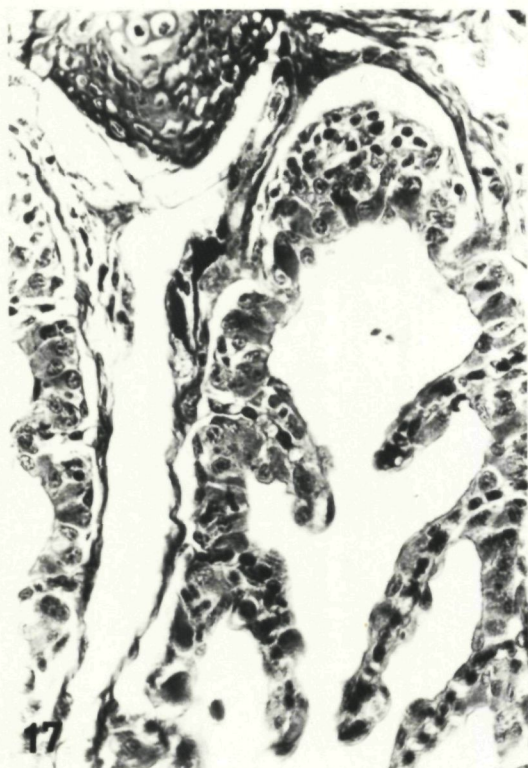
Gemiddelde celdiameter : $11,1 \pm 1,2$ / $19,4 \pm 1,3$ $11,3 \pm 0,8$ / $14,5 \pm 0,9$

Het betrouwbaarheidsinterval voor de gemiddelde waarde van deze reeks celmetingen werd berekend volgens de formule :

$$\bar{X} \pm t_n \left(\frac{s}{\sqrt{N}} \right)$$

waarin $\bar{X}$ het rekenkundig gemiddelde der metingen voorstelt, s de standaard-deviatie, N het aantal metingen. De factor t_n betekent "Student's t" of de t-waarde bij $n = N - 1$ aantal vrijheidsgraden overeenkomstig een bepaalde zekerheidsmarge.

LIGGING VAN DE KEYS-WILLMERCELLEN



Salmo salar L. Fig. 17. Smolt, lengte 16,5 cm. Zeewater 80 u 15. Kieuwfilamenten (x320), Keys-Willmercellen tussen de lamellen over de gehele lengte van het filament. Fig. 18. Parr, lengte 4,8 cm. Kieuwfilamenten (x400). Keys-Willmercellen tussen de lamellen.
Anguilla anguilla L. Gele paling, lengte 46 cm. Haven Oostende. Fig. 19. Vertikaalsnede doorheen de kieuwlamellenbasis (x320). Keys-Willmercellen links en rechts van de bloedbaan. Fig. 20. Detail van fig. 19 (x1000).

Met een zekerheidsmarge van 95 % is de gemiddelde waarde van de gemeten celdiameters voor de gele paling $11,1 \pm 1,2$ en $19,4 \pm 1,3$; voor de Donauzalm $11,3 \pm 0,8$ en $14,5 \pm 0,9$.

Voor de celmetingen die verder in dit werk voorkomen wordt de gemiddelde waarde op dezelfde wijze berekend en uitgedrukt.

De celmetingen bij *Salmo salar* L. worden genoteerd in hoofdstuk 6.

L i g g i n g v a n d e K e y s - W i l l m e r c e l l e n

De metingen wijzen uit dat de Keys-Willmercellen zelfs in één individu, verschillen in vorm, en wel volgens hun ligging (plaat VI, fig. 14, 15). Interlamellair zijn ze rond of ovoïde van vorm; op de lamellen zijn ze afgeplat en liggen ze met een brede basis tegen de bloedlacunes aan (plaat VII, fig. 19, 20), aan de basis van de lamellen, diep gelegen in het epitheel, zijn ze langwerpig en reiken ze vanaf de bloedbaan tot de uitwendige epitheelrand. De celtop mondt uit in het uitwendig milieu; bij de zoutwatervorm ontstaat op deze plaats de apicale groeve.

De Keys-Willmercellen worden aangetroffen tussen de lamellen over de gehele lengte van het kieuwfilament van het vrije uiteinde af tot in de bochten tussen de kieuwfilamenten tegen de kieuwboog aan. (plaat VII, fig. 17).

In de volgende hoofdstukken worden *Anguilla anguilla* L. en *Salmo salar* L. vanuit een bijzonder oogpunt ter studie genomen. Toch kunnen reeds hier, althans voor de onderzochte exemplaren, enkele besluiten genoteerd worden met betrekking tot het algemeen uitzicht en de ligging van de Keys-Willmercellen.

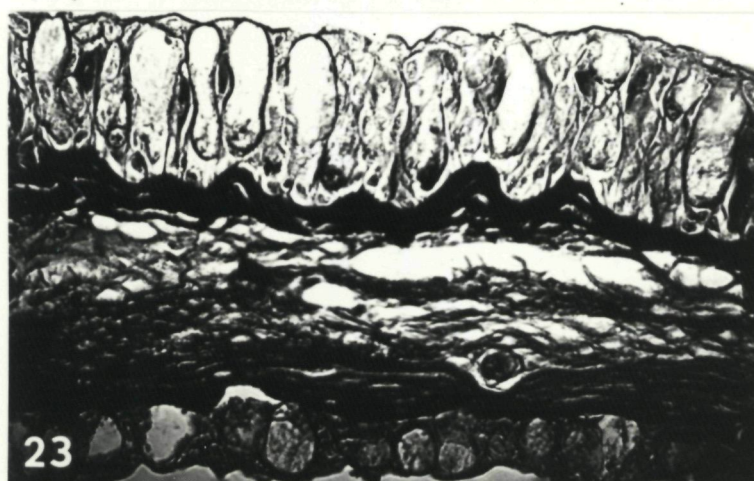
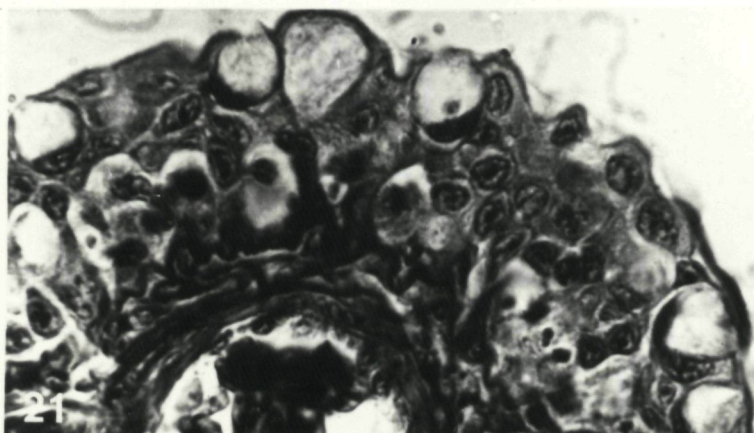
In de kieuwen van *Anguilla anguilla* L., *Conger conger* L., *Hucho hucho* L. en *Salmo salar* L. zijn de Keys-Willmercellen als specifiek te erkennen, ondanks verschil in leeftijd en uitwendig milieu der individuen en verschil in vorm en grootte van de cellen zelf.

De Keys-Willmercellen zijn gelegen in het respiratorisch epitheel in één laag, hoewel ze niet steeds aaneensluiten. Ze liggen tussen de kieuw-

lamellen en aan de basis daarvan, over de gehele lengte van het kieuw-filament.

Er werd geen verschil opgemerkt tussen de vier kieuwbladen, noch voor de afzonderlijke delen daarvan, voor wat betreft het algemeen uitzicht en de ligging van de Keys-Willmercellen.

MUCUSCELLEN



Salmo salar L. Smolt, lengte 16,2 cm. Zeewater 79 u 25. Fig. 21. Kieuwfilament in dwarsnede ; kieuwbalk-epitheel met mucuscellen (x1000). Detail van fig. 9, plaat IV.

Hucho hucho L. Zoet water. Fig. 22. Mucuscellen (x400) in het keelepitheel ter hoogte van de pseudobranchie (smaakbeker). Detail van fig. 26, plaat IX.

Anguilla anguilla L. Glasaaltje uit zeewater. Fig. 23. Snede doorheen het kieuwdeksel. Langgerekte mucuscellen in de huid, ronde mucuscellen in het kieuwepitheel (x400).

Hoofdstuk 4

VERGELIJKING VAN DE MUCUSCELLEN EN DE PSEUDOBANCHIALE CELLEN MET DE KEYS-WILLMERCCELLEN.

L i g g i n g v a n d e m u c u s c e l l e n e n v a n d e K e y s - W i l l m e r c e l l e n

Mucuscellen en Keys-Willmercellen zijn gelegen in het kieuwepitheel, bij de ter studie genomen species echter op een verschillende plaats daarin.

Voor *Salmo salar* L. blijkt dit uit de snede op plaat VIII, fig. 21 (detail van plaat IV, fig. 9.). De figuur stelt voor de dwarssnede van de kieuwbalk - het middengedeelte van het filament - met daarin het groot afvoerend bloedvat. In het epitheel dat de kieuwbalk bekleedt liggen de mucuscellen.

In het respiratorisch epitheel der kieuwlamellen kunnen Keys-Willmercellen verspreid liggen; zeer zelden komen daarin mucuscellen voor bij dieren uit zeewater. Bij dieren uit zoet water komen sporadisch mucuscellen voor op de kieuwlamellen.

In de kieuwen van *Hucho hucho* L., van *Anguilla anguilla* L. en van *Conger conger* L. is de ligging van mucuscellen en Keys-Willmercellen zoals bij *Salmo salar* L.

Bij de genoemde species werden de Keys-Willmercellen enkel aangetroffen in het epitheel tussen de kieuwlamellen en aan de basis daarvan. Behalve op de kieuwbalk komen mucuscellen overvloedig voor in het epitheel van mond-, keel- en kieuwholte en in de huid. Plaat VIII, fig. 23 geeft een snede weer doorheen het kieuwdeksel van een glasaaltje. In de huid liggen grote mucuscellen; die in het epitheel van de kieuwholte zijn kleiner en rond. De *Hucho hucho* L. - snede afgebeeld op plaat VIII, fig. 22 gaat door de bovenrand van de keelholte ter hoogte

van de pseudobranchie. De mucuscellen hier vullen de groeven tussen de bindweefselplooien. Te midden van de mucuscellen, op de rand van een bindweefselplooï, ligt een smaakbeker.

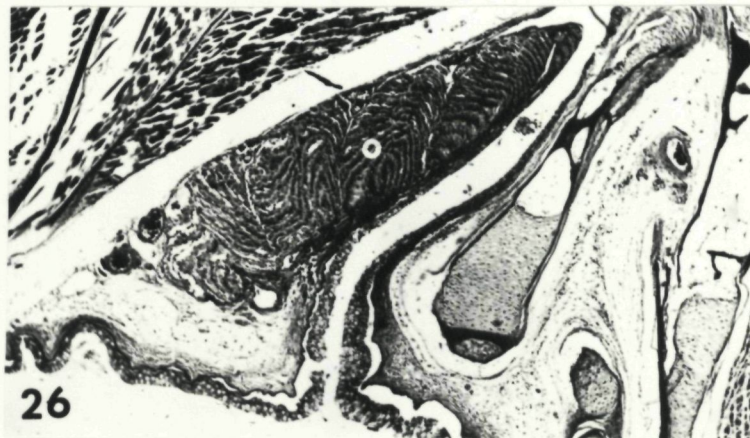
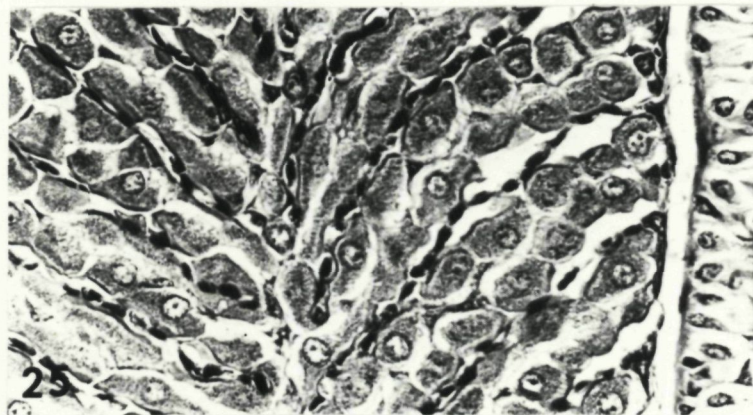
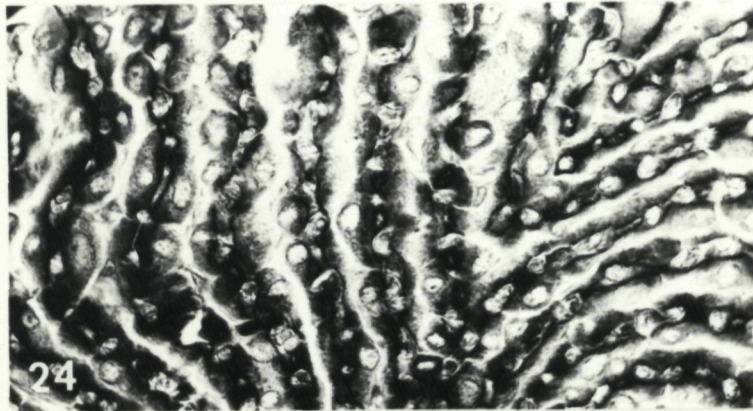
S t r u c t u u r v e r s c h i l v a n m u c u s c e l l e n e n K e y s - W i l l m e r c e l l e n

Mucuscellen (plaat VIII, fig. 21, 22, 23) vallen op door hun ronde vorm; deze vorm kan evenwel gewijzigd zijn ten gevolge van de drukking uitgeoefend door cellen die er naast of er onder liggen (vervangcellen). In de secretorische fase is het cellumen gevuld met mucus; het cytoplasma is teruggedrongen tot een smalle boord, en basaal daarin ligt de afgeplatte kern. In dit stadium vooral zijn de mucuscellen zeer gemakkelijk te onderscheiden van de Keys-Willmercellen met hun bolle kern en de kleine apicale groeve.

G. BEVELANDER (1935) en enkele auteurs na hem (Deel I, hoofdstuk 1) interpreteerden de Keys-Willmercellen als mucuscellen in verschillende stadia van hun fysiologische activiteit. Het is evenwel onwaarschijnlijk dat op het ogenblik der fixatie in één gebied, b.v. in mond- en keelholte, of in het epitheel van de kieuwbalk, de mucuscellen alle in de excretorische fase en in een nevenliggend gebied, b.v. in het epitheel tussen de kieuwlamellen, alle in de incretorische fase zouden verkeren. Wel kan het onderscheid tussen jonge cellen wellicht moeilijk zijn, voor andere species waar beide celtypen door elkaar gemengd voorkomen, zoals bij *Fundulus heteroclitus* (COPELAND 1948).

Als herkenningmiddel van mucopolysacchariden werden de typische kleurtesten aangewend. Het mucikarmijn in het Masson-trichroom kleurt de mucuscellen paars op gele achtergrond; de Keys-Willmercellen nemen de kleur aan van het metanilgeel in het trichroom aanwezig. Alciankleurstof, en MALLORY-kleuren de mucuscellen helder blauw; POLLAK-trichroom kleurt die cellen groen. Bij al de aangewende kleurtechnieken werd voor de mucuscellen een kleurabsorptie bekomen die verschilt van die der Keys-Willmercellen.

PSEUDOBANCHIALE CELLEN



Salmo salar L. Smolt, Zeewater 80 u 05, juni 1962. Fig. 24. Nevenkieuwfilament (x 400). Lamellaire structuur met pseudobranchiale cellen langsheen de bloedbaan.

Hucho hucho L. Zoet water, oktober 1962. Fig. 25. Nevenkieuwfilament (x 400). Detail van fig. 26. Fig. 26. Pseudobranchie (o) ingesloten in het bindweefsel van de keelholte (x 40).

Wat betreft de functie kent men de exocriene secretie van de mucus-cellen, maar blijven aard en mechanisme van de secretie der Keys-Willmer-cellen nog te onderzoeken.

Structuurverschil van de pseudobranchiale cellen en de Keys-Willmercellen

Herhaaldelijk stelde zich de vraag of er een verband bestaat tussen de Keys-Willmercellen en de pseudobranchiale cellen.

Met de lichtmicroscop gezien vertonen de genoemde cellen bij *Salmo salar* L. en *Hucho hucho* L. inderdaad enige onderlinge gelijkenis wat betreft de structuur van kern en cytoplasma. Door onderzoek met de elektronenmicroscop is echter deze onderlinge gelijkenis niet bevestigd (Deel I, hfst. 2). Er is een duidelijk verschil in aantal, in ligging en in grootte van die cellen en bij nauwkeurige waarneming ook in structuur.

Het aantal Keys-Willmercellen in het kieuwepitheel is gering. De pseudobranchiale cellen daarentegen liggen in dichtaaneengesloten rijen langsheen de bloedcapillairen der nevenkieuwlamellen (plaat IX, fig. 24, 25).

Er is verschil in grootte. De kern van de pseudobranchiale cellen heeft $10\ \mu$ diameter, die der Keys-Willmercellen $8\ \mu$ bij *Hucho hucho* L. Bij *Salmo salar* L. hebben de kernen respectievelijk $8\ \mu$ en $6\ \mu$ diameter. Ook de cellen zelf zijn groter dan de Keys-Willmercellen. Bij tien cellen werden ook hier de kleinste en de grootste celdiameter loodrecht op elkaar gemeten. Het resultaat opgetekend in μ is als volgt :

Pseudobranchiale cellen	Salmo salar L. Hölle, Zweden 6.1962, zeewater, 80u05	Hucho hucho L. Linkebeek 10.1962, zoet water
Kleinste en grootste celdiameter in μ :	18 / 21	20 / 22
	14 / 20	20 / 20
	13 / 22	18 / 22
	16 / 26	22// 24
	16 / 25	23 / 32
	14 / 20	20 / 30
	16 / 25	14 / 28
	13 / 30	15 / 31
	18 / 23	22 / 30
	15 / 29	19 / 28
Gemiddelde celdiameter	15,3 $\pm$ 1,3 / 24,1 $\pm$ 2,5	19,3 $\pm$ 2,1 / 26,7 $\pm$ 3,1

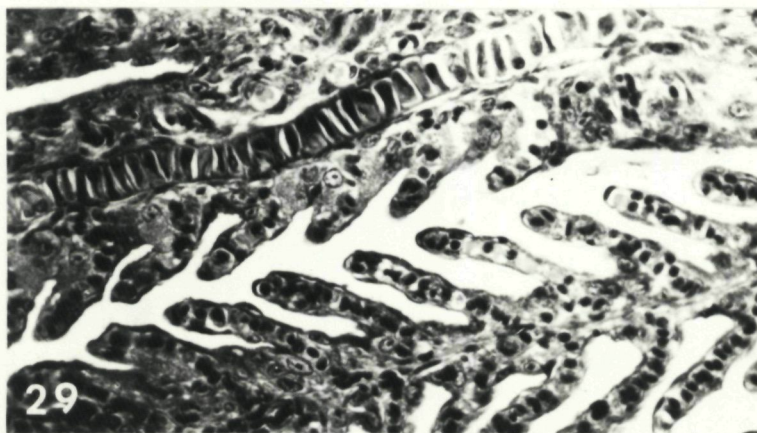
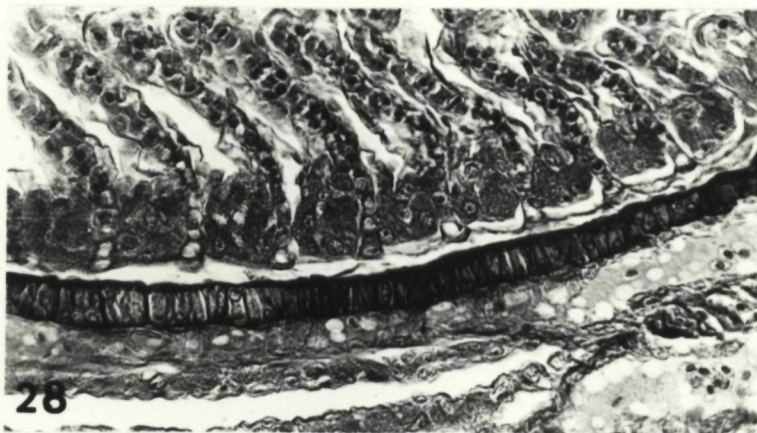
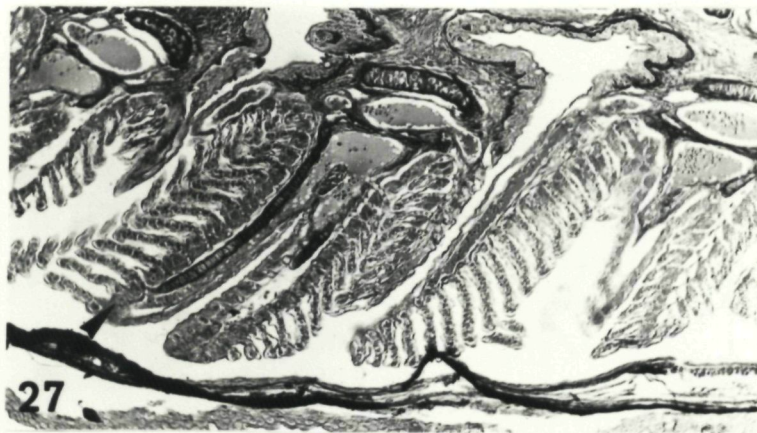
Er werd voor de pseudobranchiale cellen geen beïnvloeding waargenomen tengevolge verschil in zoutgehalte in het uitwendig milieu, zoals voor de Keys-Willmercellen is aangetoond in voorgaande hoofdstukken en in de volgende nader zal worden besproken. Ook is de korreling in het cytoplasma het meest dens aan de celbasis naar de bloedbaan toe en niet zoals bij de Keys-Willmercellen, apicaal van de bloedbaan weg. De kern ligt ook niet basaal maar eerder apicaal. Een celgroeve is niet waargenomen.

Het grootste onderscheid tussen de onderzochte Keys-Willmercellen en pseudobranchiale cellen is hun al dan niet in contact treden met het uitwendig milieu. Zoals in vele gevallen bij *T e l e o s t e i*, ligt de pseudobranchie bij de Donauzalm en bij de Atlantische zalm bijna geheel ingesloten in het bindweefsel van de keelholte (plaat IX, fig. 26), de Keys-Willmercellen staan alle in verbinding met het uitwendig milieu (plaat VI, fig. 13, 14, 15, 16).

Dit onderscheid in relatie met het uitwendig milieu doet betwijfelen of de Keys-Willmercellen en de pseudobranchiale cellen eenzelfde eventueel endocriene functie vervullen, zoals enkele onderzoekers (Deel I, hfst. 2) hebben gesuggereerd.

Voor *A n g u i l l a a n g u i l l a* L. werd bij de onderzochte stadia : gele paling en glasaaltje, geen pseudobranchie aangetroffen.

KIEUWSNEDEN VAN GLASAALTJES



Anguilla anguilla L. Glasaaltjes Den Helder, zeewater. Fig. 27. Lengtesnede doorheen de kieuwholte. Rij Keys-Willmercellen (▲) langsheen de kieuwstraal (x 100). Fig. 28. Detail van fig. 27 (x 400). Fig. 29. Glasaaltjes Valkenswaard, zoet water. Keys-Willmercellen langsheen de kieuwstraal, tussen de kieuwlamellen (x 400).

Hoofdstuk 5

ZOETWATER- EN ZEEWATERADAPTATIE BIJ DE EUROPESE PALING EN BEÏNVLOEDING DAARBIJ VAN DE KEYS-WILLMERCELLEN

Z o e t w a t e r - e n z e e w a t e r a d a p t a t i e b i j g l a s a a l t j e s

De g l a s a a l t j e s , vóór de Spuisluis van Den Helder in zeewater gevangen, waren doorzichtig, nog niet gepigmenteerd. Op de lengtesnede doorheen de kieuwfilamenten (plaat X, fig. 27) zijn zelfs bij geringe vergroting $\times 100$ de Keys-Willmercellen duidelijk waar te nemen. Deze liggen tussen de kieuwlamellen in en vormen een donkere cellenrij langsheen de kieuwstraal. Bij sterker vergroting (plaat X, fig. 28) is duidelijk te zien - karakteristiek voor de zoutwatervorm van de Keys-Willmercellen - het dense cytoplasma met de apicale groeve.

De g l a s a a l t j e s gevangen in de monding van de Teems, overgebracht per vliegtuig en gestockeerd te Valkenswaard in grote zoetwatertanks, hadden reeds het uitzicht van kleine palingen met beginnende pigmentatie. Al verliep er slechts één week tussen het vangen in de Teems en het fixeren van de glasaaltjes te Valkenswaard, toch vertoonden de Keys-Willmercellen reeds de zoetwatervorm (plaat X, fig. 29). Op een lengtesnede doorheen het kieuwfilament ter hoogte van de kieuwstraal kunnen de Keys-Willmercellen duidelijk worden waargenomen. Toch zijn ze weinig opvallend tengevolge van de geringe kleurabsorptie en het kleine aantal.

Dit kieuwbeeld - verschillend van dat van de glasaaltjes uit zeewater - lijkt zeer op dat van de zalm-parr die uitsluitend aangepast is aan zoet water (plaat VII, fig. 18).

De vraag stelde zich of deze kleine palingen - de lengte was ± 7 cm, het gewicht $\pm 0,3$ g - nog zeewater konden verdragen en hoe de Keys-Willmercellen daarbij zouden reageren.

Vanaf april 1965 tot mei 1966 werden er vanuit een reserve van ruim 400 exemplaren gehouden in stromend leidingswater, elke maand een twintigtal overgezet in kleinere tanks met doorlucht zeewater (5 liter), en voor controle een zelfde aantal in evengrote tanks met doorlucht leidingswater (5 liter). Het water in de kleine tank werd gebracht op een temperatuur gelijk aan die van het water in de reservetank, zodat er bij het overzetten, voor de proefdieren geen temperatuurwisseling voorkwam. De temperatuur van de reservetank steeg in de zomer niet boven 16°; tijdens de winter daalde ze niet beneden 9°.

De eerste overzetting naar zeewater op 28.4.1965 bij een temperatuur van 12,5°C werd door de 20 proefdieren goed verdragen. Echter na een besmetting (vastgesteld op 25.5.1965) met de ectoparasitaire ciliaat *Chilidone lla* - bestreden door middel van een bad trypaflavine (SCHÄPERCLAUS 1954) - verdroegen de twee derden van de kleine palingen de daaropvolgende overzetting op 2.6.1965 niet. Bij een nieuwe overzetting twaalf dagen nadien (14.6.1965) was er geen sterfte meer; ook werden alle latere overzettingen van zoet water naar zeewater goed verdragen.

Na vier maanden verblijf in zeewater kon er maandelijks - van 15.9.65 tot 14.10.66 - een terugzetten plaats hebben van een tiental exemplaren uit het zeewater naar leidingswater, met overleving van alle dieren. Ook hier werd bij het overzetten gelijkheid van temperatuur in acht genomen.

Tijdens het onderzoek werden de kleine palingen gevoed met *Tubifex*. Na 1 jaar was de lengte toegenomen van ± 7 cm tot ± 11 cm en het gewicht van 0,3 g tot 1,7 g; de dieren verkregen het uiterlijk voorkomen van kleine donker gepigmenteerde palingen.

Herhaaldelijk had fixatie van proefdieren plaats, o.m. een week na het overzetten van leidingswater naar zeewater of omgekeerd. In de microscopisch onderzochte gevallen vertoonden de Keys-Willmercellen de kenmerkende zoutwatervorm of zoetwatervorm bij die dieren die op het ogenblik van fixatie in zeewater, respectievelijk in leidingswater verbleven. Het kieuwbeeld was telkens vrij gelijkend aan dat op plaat X, fig. 27, 28 (voor dieren uit zeewater), fig. 29 (voor dieren uit leidingswater).

Z o e t w a t e r - e n z e e w a t e r a d a p t a t i e b i j g e l e p a l i n g

Op verschillende tijdstippen van het jaar werd de structuur van de Keys-Willmercellen nagegaan bij g e l e p a l i n g na een langdurig verblijf in water met constant zoutgehalte - zeewater of zoet water - en ook na overplaatsen vanuit zeewater naar zoet water en omgekeerd.

Een reeks palingen hiervoor werd verkregen uit de haven van Oostende in de herfst, nl. op 30 september 1964. De gele palingen waren volgens de lengte-gewichtsverhouding (FROST 1945) 3-4 jaar oud, na de metamorfose. De dieren werden geacclimatiseerd in over een filter circulerend doorlucht zeewater. Het NaCl-gehalte was 24,2 ‰.

Na een maand werd de helft der palingen vanuit het zeewater overgebracht in stromend leidingswater. Na een verblijf van vier maanden werden uit deze twee groepen palingen gefixeerd voor onderzoek.

Acht maanden na de aanvang van het experiment werd uit elk der twee groepen de helft der dieren overgebracht vanuit zeewater naar leidingswater of omgekeerd voor de duur van twaalf dagen, waarna alle dieren gefixeerd werden. De laatste twaalf dagen voor het fixeren werden de dieren niet gevoed.

In de lente, nl. op 13.5.1965, werd voor dit onderzoek een tweede reeks palingen verkregen uit Zeebrugge, $\pm$ 4 jaar oud volgens de lengte-gewichtsverhouding (FROST 1945). Er werd gewerkt zoals hierboven is beschreven, doch met kortere tijden. Het overbrengen vanuit zeewater (NaCl 21,8 ‰) naar zoet water en omgekeerd had plaats na anderhalve maand, het fixeren twaalf dagen later.

Bij al deze overzettingen werd gelijkheid van temperatuur in de wassertanks in acht genomen.

Voor de beide reeksen palingen werd vóór het fixeren bloed genomen rechtstreeks uit het hart met gehepariniseerde capillairen. Het bloedserum werd afgezonderd met een microcentrifuge en vlamspectrofotometrisch gedoseerd op het Na-gehalte; dit werd omgerekend in NaCl ‰.

De tabellen op p. 74 en 75 bevatten een overzicht van bovenstaande gegevens en ^{de} resultaten van de Na-analyse.

Voor het onderzoek van het kieuwweefsel werden in elke groep enkele dieren willekeurig uitgekozen. In de tabellen duidt een plus-teken op de zoutwatervorm, een min-teken op de zoetwatervorm zoals deze in deel II, hfst. 3 zijn beschreven.

ZOETWATER- en ZEEWATERADAPTATIE bij GELE PALING

Oostende-Haven 30.9.1964/28.6.1965

Paling Nr	Lengte in cm	Verblijf(in maand. of dag.)				Fixatie		NaCl ‰	Uitzicht K.W.cellen
		Temp.	Zeewater	Zoet w.	Zeew.	Datum	Temp.		
A 1	25.0	14°	4 md	-	-	3.2.65	9°	9.2	+
2	24.0							9.2	+
3	24.5							9.4	+
4	23.8							9.4	+
5	24.3							9.4	+
A 6	23.2	14°	1 md	3 md	-	3.2.65	10°	8.6	-
7	24.8							8.7	-
8	24.7							9.7	-
9	26.1							9.7	-
10	24.5							9.4	-
A 40	18.4	14°	8 md	12 d	-	16.6.65	14°	8.4	
41	22.6							9.0	-
42	19.7							7.7	
43	20.6							8.4	
44	22.1							8.3	
45	20.2							8.0	
A. 46	23.8	14°	8½md	-	-	16.6.65	16°	9.0	
47	24.7							10.5	
48	23.0							8.9	
49	25.0							9.2	+
50	19.7							9.4	
51	22.2							9.4	
A 59	26.1	14°	1 md	7½md	12 d	28.6.65	16°	8.7	
60	26.4							8.7	
61	25.9							8.6	+
A 62	23.0	14°	1 md	8 md	-	28.6.65	14°	8.7	-
63	21.0							9.4	
64	21.4							9.2	
65	21.6							10.0	
66	24.1							9.0	-

ZOETWATER- en ZEEWATERADAPTIE bij GELE PALING

Zeebrugge 13.5.1965/10.7.1965

Paling Nr	Lengte in cm	Verblijf (in maand. of dag.)				Fixatie		NaCl ‰	Uitzicht K.W.cellen
		Temp.	Zeewater	Zoet w.	Zeew.	Datum	Temp.		
A 70	28.6	13°	-	1½md	-	28.6.65	14°	9.2	
71	27.8							9.7	
A 72	30.1	15°	1½md	-	-	28.6.65	16°	9.7	
73	26.3							11.7	
A 90	28.5	14°	1½md	12 d	-	10.7.65	14°	8.7	-
91	27.2							9.2	
92	26.1							8.7	
93	25.1							8.6	
94	26.8							8.6	
95	26.7							8.5	
96	27.7							8.9	
A 97	25.8	16,5°	2 md	-	-	10.7.65	16°	9.2	+
98	26.6							8.5	
99	24.3							10.1	
100	25.1							9.7	
A 101	23.5	16°	-	1½md	12 d	10.7.65	14°5	12.5	
102	23.2							9.2	+
103	25.0							9.0	
104	28.1							9.0	
105	27.5							9.0	
106	31.8							9.4	
A 107	27.7	14°	-	2 md	-	10.7.65	13°5	8.7	-
108	26.0							8.9	
109	28.7							8.7	
110	26.5							9.7	

K w e t s u u r e x p e r i m e n t :

M a t e r i a a l e n m e t h o d e

Bij vele waterdieren, o.m. bij de kikker, is de gehele lichaamsoppervlakte doorlaatbaar voor water en voor zouten (KROGH 1937a). Bij de vissen blijkt het diffusievermogen beperkt tot mond en kieuwepitheel (HOMER SMITH 1930).

Daar DUVAL (1925) en na hem ook KEYS (1932) en BOUCHER-FIRLY (1935) vaststellen dat beschadiging van de slijm huid bij de paling oorzaak kan zijn van verandering in Cl-gehalte van het bloedserum, zo stelt zich de dubbele vraag : Heeft beschadiging van de huid een weerslag op de Keys-Willmercellen ? Is de functie van de Keys-Willmercellen te benaderen door het experimenteel aanbrengen van een huidwonde bij palingen tijdens zoetwater- en zeewateradaptatie ? Wordt, meer bepaald het a a n t a l Keys-Willmercellen gewijzigd bij de aanpassing van deze gekwetste dieren aan zoetwater, respectievelijk aan zeewater ?

De zoetwater- en zeewateradaptatie voor A n g u i l l a a n - g u i l l a L. werd in dit experiment doorgevoerd met g e l e p a - l i n g waarbij het a a n t a l Keys-Willmercellen g e t e l d werd. De gebruikte exemplaren hebben een lengte van 20-30 cm en behoren tot twee groepen. Een eerste groep van 35 exemplaren werd gevangen op 20 mei 1965 in de Spuikom te Oostende. Het NaCl-gehalte in de Spuikom bedroeg op dat ogenblik 22,1 ‰. Een tweede groep van 25 exemplaren is op 22 mei 1965 gevangen te Doel in brak Scheldewater met een NaCl-gehalte van 4,5 ‰.

De twee groepen werden overgebracht naar de aquariumzaal van het laboratorium. De palingen van de Spuikom zijn geplaatst in (over een filter circulerend) doorlucht zeewater, met een NaCl-gehalte van 24,2 ‰; de palingen uit Doel, in stromend, doorlucht leidingswater. De temperatuur van het zeewater en van het leidingswater bedroeg gedurende de dag 14°-16° C.

Na een acclimatiseren van 1 - 1 1/2 maand werd bij een gedeelte der palingen uit beide groepen postnataal de huid weggesneden tussen rugvin en zijstreek over een lengte van 6 cm. Een lichte narcose door indompe-

ling gedurende 5 min. in het anaestheticum Propoxate (THIENPONT en NIEME-GEERS 1965), bij een concentratie 2 ppm, vergemakkelijkt het aanbrengen van de wonde.

Voor elke groep werden de gekwetste dieren met een reeks controle-dieren gedurende twaalf dagen in eenzelfde tank gehouden. Tijdens het experiment werden de dieren niet gevoed.

Fixatie van enkele exemplaren had plaats bij de vangst (21/22.5.1965) en bij het begin van het experiment (25.6.1965). Op het eind van het experiment (5/20.7.65) werden de gewonde en de controle-dieren gefixeerd.

Vóór het fixeren werd bloed genomen zoals hierboven is beschreven. Het bloedserum werd vlamspectrofotometrisch gedoseerd op het Na-gehalte.

Voor elke paling werd met de lichtmicroscop per honderd lamellenbassissen het aantal Keys-Willmercellen geteld.

De tabellen op p. 78 en 79 bevatten een overzicht van bovenstaande gegevens en de numerieke resultaten van het onderzoek.

KWETSUUREXPERIMENT bij GELE PALING

Oostende-Spuikom, 21.5.1965/5.7.1965

REEKS Uitwendig milieu Saliniteit, temp.	Fixatie Datum Temp.	Paling Nr	Lengte in cm	Serum NaCl ‰	Keys-Willmercellen	
					Uitzicht	aantal
Bij de vangst	21.5.65	A 28	25.6	10.2	+	286
Zeewater		29	29.1	8.7	+	319
NaCl 22,1 ‰		30	24.0	9.4	+	297
-	14°	32	31.9	10.0	+	335
Begin v.h. experiment	25.6.65	A 55	21.4	10.0	+	350
Zeewater		56	24.5	8.7	+	305
NaCl 24,2 ‰		57	31.2	9.4	+	325
14°	15°	58	19.9	9.5	+	312
Controle-dieren	5.7.65	A 74	22.8	10.0	+	307
Zeewater		75	22.2	10.3	+	293
NaCl 24,2 ‰		76	27.3	10.7	+	331
14°	16°	77F	26.7	10.0	+	318
Gewonde dieren	5.7.65	A 79	24.7	15.6	Hemorrhagic	G.D.
Zeewater		80F	30.5	9.0	++	504
NaCl 24,2 ‰		81	25.3	10.3	++	465
14°	16°	82	28.6	11.3	++	489
		83	29.5	10.0	++	460
CONTROLE-dieren	5.7.65	A 86	27.9	7.9	-	197
Leidingswater		87	25.2	9.4	-	197
14°	14°	88	26.0	9.0	-	264
Gewonde dieren	5.7.65	A 84	25.0	4.6	Hemorrhagic	G.D.
Leidingswater 14°	14°	85	27.9	7.7	-	267

F. Fig. 31 en Fig. 30, plaat XI

KWETSUUREXPERIMENT bij GELE PALING

Doel 22.5.1965/20.7.1965

REEKS Uitwendig milieu Saliniteit, temp.	Fixatie Datum Temp.	Paling Nr	Lengte in cm	Serum NaCl ‰	Keys-Willmercellen	
					Uitzicht	aantal
Bij de vangst	22.5.65	A 33	26.5	-	+	328
Brak water		34	29.0	-	+	313
NaCl 4,5 ‰		35	27.7	-	+	354
-	-	36	26.2	-	+	329
(te Doel gefixeerd).						
Controle-dieren	20.7.65	A 117F	24.6	8.7	-	186
Leidingswater		118	24.8	9.0	-	138
13°5	14°	119	24.6	9.4	-	195
		120	24.1	9.2	-	196
Gewonde dieren	20.7.65	A 111F	28.7	8.6	- -	277
Leidingswater		112	26.5	8.9	- -	249
13°5	13°5	113	28.9	7.9	- -	227
		114	29.2	7.9	- -	253
		115	24.6	8.1	- -	260
		116	28.1	9.0	- -	246

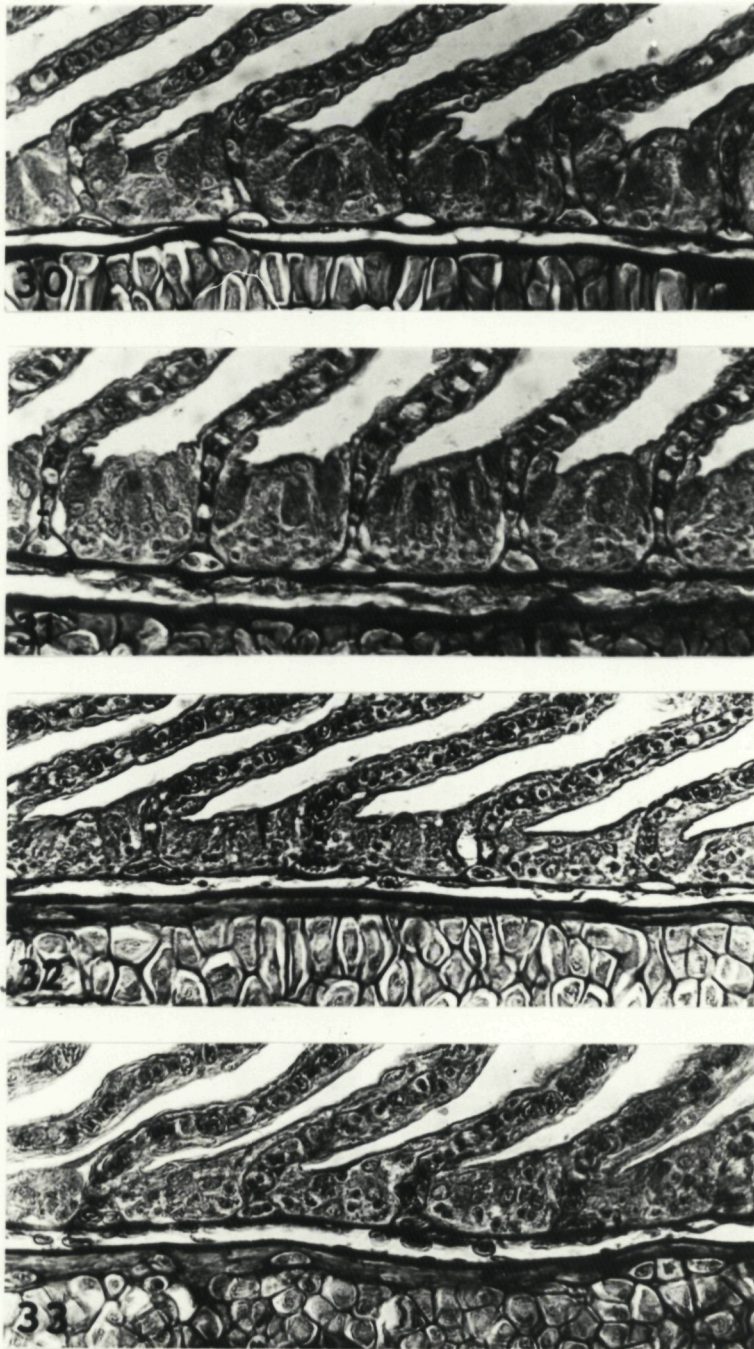
F. FIG. 33 en Fig. 32, plaat XI.

NaCl - c o n c e n t r a t i e v a n h e t b l o e d s e r u m

De NaCl-concentratie van het bloedserum vertoont individuele verschillen gelijkend op die welke voor het voorafgaand onderzoek werden genoteerd in de tabellen 74 en 75.

Voor de gewonde diëren stemmen de cijfers nagenoeg overeen met die der controle-dieren. Voor de dieren uit zeewater - gewonde en niet-gewonde - liggen in het algemeen de cijfers lichtjes hoger dan voor de dieren uit leidingswater, doch ook deze verschillen liggen binnen de marge

KWETSUUREXPERIMENT : STRUCTUUR VAN DE KEYS-WILLMERCELLEN



Anguilla anguilla L. Gele paling. Lengtesneden doorheen een kieuwfilament ter hoogte van de kieuwstraal. Keys-Willmercellen verschillend in structuur en in aantal (x 400). Fig. 30. Gewond dier uit zeewater (Oostende-Spuikom). Fig. 31. Controle-dier. Fig. 32. Gewond dier uit leidingswater (Doel). Fig. 33. Controle-dier.

van de individuele verschillen.

Twee dieren vertoonden een sterk afwijkende zoutconcentratie in het bloedserum :

A 79, gewond dier uit zeewater : NaCl 15,6 ‰

A 84, gewond dier uit leidingswater : NaCl 4,6 ‰

Beide dieren behoren tot de groep uit de Spuikom te Oostende. Uitzwendig vertoonden ze geen letsel; ook niet bij de dissectie. Wel lieten ze zich gemakkelijker dan de andere palingen grijpen voor het fixeren. Bij het microscopisch onderzoek van de kieuwen konden de kentekens worden vastgesteld van de "Hemorrhagic gill-disease" (WOOD & YASUTAKE 1957). Deze dieren werden niet verder in het onderzoek opgenomen.

Structuur en grootte van de Keys-Willmercellen

Naargelang de palingen verbleven in zeewater of in leidingswater en al dan niet gewond werden, verschillen de Keys-Willmercellen in structuur en in aantal.

De foto's op plaat XI geven het verschil in structuur weer. Bij de dieren die in zeewater verbleven vertonen de Keys-Willmercellen de sterke kleurabsorptie, de dense korreling van het cytoplasma en de karakteristieke apicale vacuool zoals is waargenomen bij de paling uit een natuurlijk marien milieu (deel II, hfst. 3). Bij de gewonde dieren (fig. 30) zijn deze kenmerken sterker uitgesproken, de Keys-Willmercellen talrijker en meestal ook groter dan bij de niet-gewonde controle-dieren (fig. 31).

Bij de dieren uit het leidingswater is de kleurabsorptie gering, maar verschillend voor de cellen onderling. Zo kunnen wat het cytoplasma betreft, lichte en meer donkere vormen onderscheiden worden. De apicale groeven - minder talrijk dan in de zoutwatervorm - zijn smal, maar dringen dieper door in het cytoplasma en dit meer bij de gewonde dieren (fig. 32) dan bij de controle-dieren (fig. 33).

De structuur van de Keys-Willmercellen werd op de tabellen p. 78

en 79 kwalitatief genoteerd : + voor de zoutwatervorm, ++ voor de geac-centueerde vorm hiervan bij de gewonde dieren in zeewater; - voor de zoetwatervorm en -- voor de gewonde dieren die in leidingswater verbleven.

Het meten voor elke reeks van tien goedgevormde cellen volgens twee diameters loodrecht op elkaar genomen, gaf volgend resultaat :

Keys-Willmercellen : kleinste en grootste c e l d i a m e t e r in μ

Z e e w a t e r : Gele paling, Oostende-Spuikom

Gewonde dieren

A 80 12 / 20
 11 / 21
 12 / 18
 15 / 18
 13 / 19
 13 / 22
 14 / 20
 11 / 26
 10 / 24
 14 / 18

Controle-dieren

A 77 11 / 22
 13 / 20
 11 / 19
 11 / 20
 10 / 21
 10 / 20
 12 / 19
 11 / 17
 10 / 19
 12 / 19

Gemiddeld : 12,5 $\pm$ 1,1 / 20,6 $\pm$ 1,9

11,1 $\pm$ 0,7 / 19,6 $\pm$ 1,0

L e i d i n g s w a t e r : Gele paling Doel

Gewonde dieren

A 111 9 / 17
 12 / 16
 9 / 18
 11 / 16
 12 / 20
 10 / 20
 12 / 18
 14 / 19
 11 / 19
 10 / 20

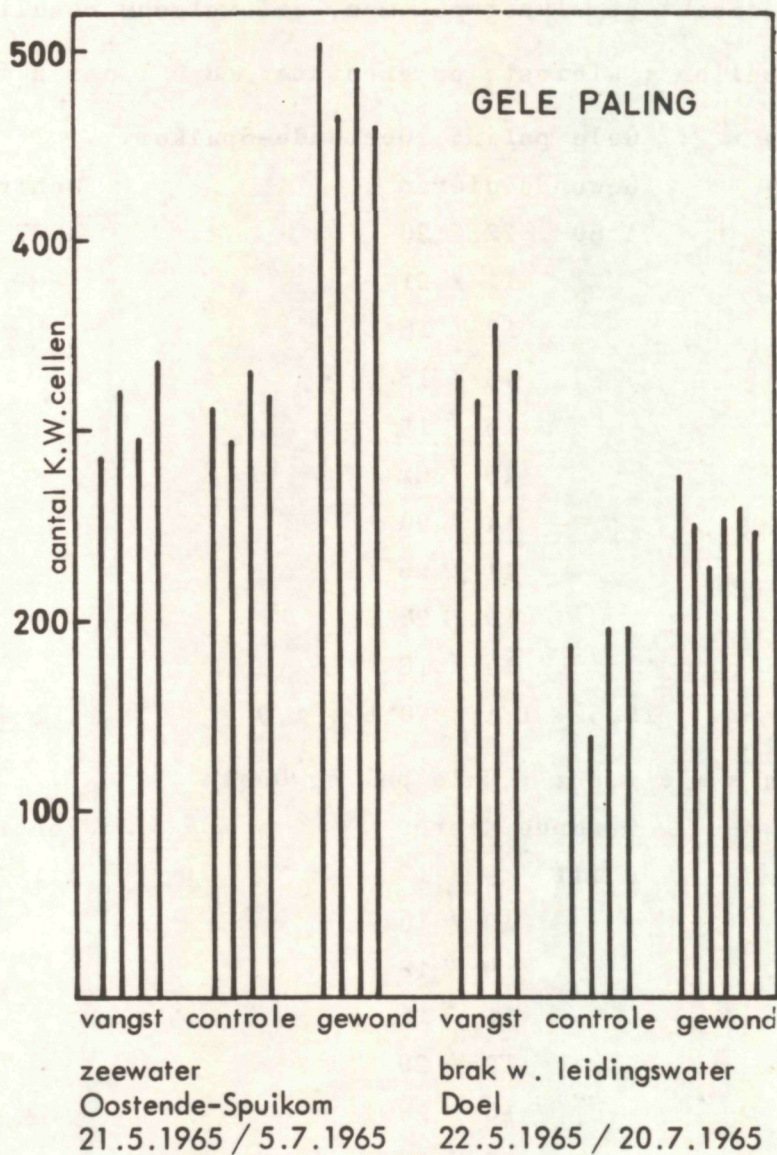
Controle-dieren

A 117 8 / 19
 8 / 16
 10 / 16
 9 / 16
 11 / 12
 10 / 18
 10 / 17
 12 / 17
 10 / 16
 10 / 18

Gemiddeld: 11,0 $\pm$ 1,1 / 18,2 $\pm$ 1,1

9,8 $\pm$ 0,9 / 16,5 $\pm$ 1,4

KWETSUUREXPERIMENT : AANTAL KEYS-WILLMERCELLEN



Anguilla anguilla L. Verandering in het aantal Keys-Willmercellen na het aanbrengen van een huidwonde bij palingen. Het aantal Keys-Willmercellen van de gewonde dieren verschilt van het aantal bij de vangst en is hoger dan dat van de controle dieren, zowel bij de palingen uit zeewater als bij die uit leidingswater.

Uit M.J. VAN DYCK (1966).

A a n t a l v a n d e K e y s - W i l l m e r c e l l e n

De Keys-Willmercellen werden geteld zoals staat aangegeven in deel II, hfst. 3, p. 63, nl. op honderd lamellenbasissen na elkaar genomen, en dit op een lengtesnede doorheen het kieuwfilament ter hoogte van de kieuwstraal.

Tijdens de a d a p t a t i e a a n z e e w a t e r zijn bij de niet-gewonde dieren de verschillen gering wat betreft èn de spreiding per lamellenbasis èn het aantal op 100 lamellenbasissen per individu en dit voor de drie onderzochte reeksen, nl. bij de vangst van de palingen, bij het begin van het experiment en de reeks der controle-dieren. D e g e w o n d e d i e r e n v e r t o n e n een verhoging in de spreiding dezer cellen per lamellenbasis en e e n o p v a l l e n d e t o e n a m e i n a a n t a l K e y s - W i l l m e r c e l l e n.

Tijdens de a d a p t a t i e van de palingen van de Spuikom, Oostende, aan l e i d i n g s w a t e r , daalde het aantal Keys-Willmercellen; bij de gewonde dieren echter minder sterk dan bij de controle-dieren. Door een mechanisch defect ontsnapte een gedeelte der palingen uit het leidingswater.

Met een tweede reeks gele palingen, gevangen te Doel, werd verder gewerkt. Het uitgangspunt voor deze tweede reeks was verschillend van dat der eerste. De palingen uit de Spuikom te Oostende ($\text{NaCl } 22,1 \text{ ‰}$) werden geacclimatiseerd in zeewater ($\text{NaCl } 24,2 \text{ ‰}$). De palingen uit Doel, gevangen in brak water ($\text{NaCl } 4,5 \text{ ‰}$) werden geacclimatiseerd in leidingswater ($\text{NaCl } 0,05 \text{ ‰}$).

Na de acclimatisatie werden de gewonde dieren met de controle-dieren in stromend leidingswater gehouden. Wat betreft structuur, grootte en aantal van de Keys-Willmercellen waren na 12 dagen de resultaten voor deze tweede groep nagenoeg gelijkwaardig aan die van de groep uit de Spuikom.

De numerieke resultaten van het kwetsuurexperiment werden opgetekend in de tabellen p. 78 en 79.

Het detail van aantal en frequentie van de Keys-Willmercellen staat aangegeven in de volgende twee tabellen op p. 84 en 85.

Ter vergelijking werdende gegevens betreffende het aantal Keys-Willmercellen statistisch verwerkt, nl. die van vier reeksen van het kwetsuur-experiment twee aan twee genomen, nl. zeewater : gewonde en controle-dieren; leidingswater : gewonde en controle-dieren. De gemiddelde waarden en de standaarddeviaties werden berekend; op de berekende waarden werd de t-test volgens "Student" als probabiliteitstest toegepast. Volgens de tabel van FISCHER ligt de probabiliteit P lager dan 0,001. Uit deze berekening blijkt dat er een zeer lage waarschijnlijkheid bestaat dat het waargenomen verschil tussen gewonde dieren en controle-dieren in zeewater en in leidingswater, aan het toeval zou toe te schrijven zijn. Het lijndiagram - waarin voor ieder exemplaar door een verticale lijn het totaal aantal Keys-Willmercellen op 100 lamellenbasissen is weergegeven - toont dit verschil duidelijk aan.

KWETSUUREXPERIMENT *Anguilla anguilla* L.

Statistische verwerking van de gegevens I

Gewonde dieren in leidingswater

X	A 111 112 113 114 115 116	f	fX	X ²	fX ²
1	5 12 14 12 13 13	69	69	1	69
2	35 42 51 43 38 45	256	512	4	1024
3	40 33 29 28 29 27	186	558	9	1674
4	12 11 6 14 16 13	72	288	16	1152
5	6 2 - 3 4 2	17	85	25	425
		N ₁ = 600	Σ = 1512		Σ = 4344

Controle-dieren in leidingswater

X	A 117 118 119 120	f	fX	X ²	fX ²
0	2 7 4 -	13	0	0	0
1	37 55 25 29	146	146	1	146
2	40 32 47 48	167	334	4	668
3	16 5 20 21	62	186	9	558
4	4 1 4 2	11	44	16	176
5	1 - - -	1	5	25	25
		N ₂ = 400	Σ = 715		Σ = 1573

Gemiddelde waarde

$$\bar{X} = \frac{\sum fX}{N}$$

$$\bar{X}_1 = 2,52 \quad \bar{X}_2 = 1,79$$

Standaarddeviatie

$$S^2 = \frac{\sum fX^2 - \frac{(\sum fX)^2}{N}}{N - 1}$$

$$S_1^2 = 0,8911 \quad S_2^2 = 0,7391$$

$$S_1 = 0,9439 \quad S_2 = 0,8597$$

"Student's" t

$$t = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2) \sqrt{\frac{N_1 \times N_2}{N_1 + N_2}}}{\sqrt{\frac{(N_1 - 1) S_1^2 + (N_2 - 1) S_2^2}{N_1 + N_2 - 2}}}$$

$$t = 12,411$$

Probabiliteitstest volgens tabel FISHER

voor $n = N_1 + N_2 - 2$ aantal vrijheidsgraden

$$P < 0,001$$

voor $n = 998$

KWETSUUREXPERIMENT *Anguilla anguilla* L.

Statistische verwerking van de gegevens II

Gewonde dieren in zeewater

X	A 80	81	82	83	f	fX	X ²	fX ²
1	-	-	1	-	1	1	1	1
2	2	2	-	2	6	12	4	24
3	8	15	15	17	55	165	9	495
4	20	25	26	34	105	420	16	1680
5	39	39	26	23	127	635	25	3175
6	20	13	19	18	70	420	36	2520
7	7	5	10	3	25	175	49	1225
8	4	1	2	2	9	72	64	576
9	-	-	1	1	2	18	81	162
					N ₁ = 400	Σ = 1918		Σ = 9858

Controle-dieren in zeewater

X	A 74	75	76	77	f	fX	X ²	fX ²
1	3	1	-	4	8	8	1	8
2	27	34	21	21	103	206	4	412
3	40	45	40	42	167	501	9	1503
4	22	14	27	20	83	332	16	1328
5	6	4	11	12	33	165	25	825
6	2	1	1	1	5	30	36	180
7		1			1	7	49	49
					N ₂ = 400	Σ = 1249		Σ = 4305

Gemiddelde waarde

$$X_1 = 4,79 \quad X_2 = 3,12$$

Standaarddeviatie

$$S_1^2 = 1,6570 \quad S_2^2 = 1,0149$$

$$S_1 = 1,2872 \quad S_2 = 1,0074$$

"Student's" t

$$t = 20,433$$

Probabiliteitstest volgens tabel FISHER

$$P < 0,001$$

voor $n = N_1 + N_2 - 2$ aantal vrijheidsgradenvoor $n = 798$

Voor de statistische verwerkingen die verder in dit werk voorkomen worden de t-waarde en de probabiliteit op dezelfde wijze berekend en genoteerd.

Hoofdstuk 6

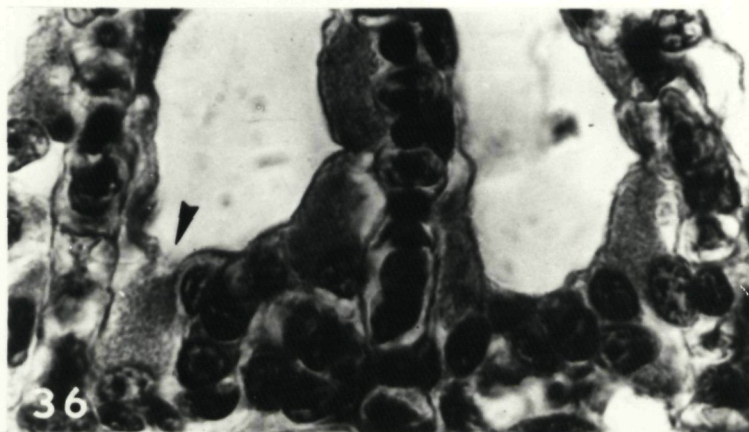
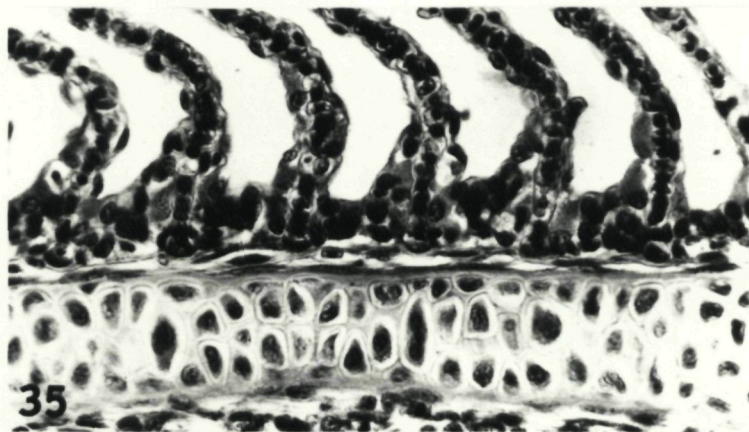
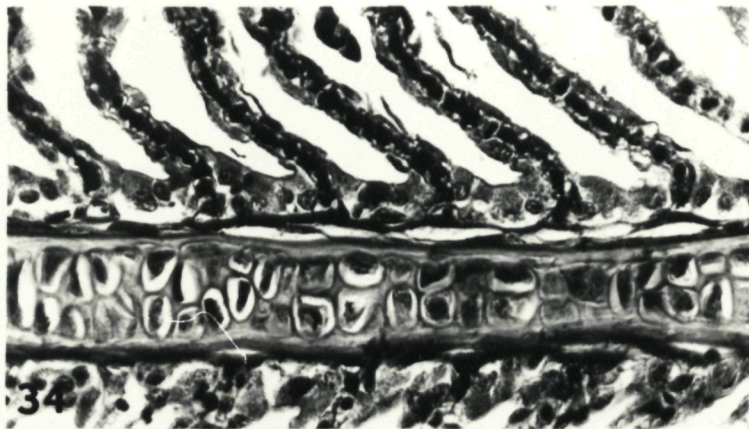
VERBAND TUSSEN DE KEYS-WILLMERCCELLEN EN DE MINERALE REGULATIE BIJ DE ATLANTISCHE ZALM

De studie van Keys-Willmercellen bij de Atlantische zalm, *Salmo salar* L. werd doorgevoerd op gefixeerde zalmen die Prof. Dr. H.J. KOCH ons ter beschikking stelde. Deze zalmen behoren tot zeer gediversifieerde reeksen, zowel wat betreft de plaats van herkomst, als het tijdstip waarop ze werden gevangen en het ontwikkelingsstadium dat ze hadden bereikt (deel II, hfst. 1, p. 53).

Vooreerst werden de kieuwen bestudeerd van een populatie zalmen van het kweekstation te Hölle in Zweden nl. smolts in het begin van hun 3de zomer. Op het tijdstip der migratie (juni 1962) werd een eerste reeks dezer zalmen plots overgebracht van zoet water naar zeewater van éénzelfde temperatuur van 3,8° C; een tweede reeks werd weerhouden in zoet water en slechts in de eerstvolgende winter (december 1962) plots overgebracht naar zeewater, bij éénzelfde temperatuur van 4°C (KOCH 1962).

Deze temperaturen liggen niet zo laag dat ze voor de zalm de grens van zijn fysiologische activiteit zouden vertegenwoordigen en alzo de Keys-Willmercellen zouden beïnvloeden. WOODHEAD en WOODHEAD (1959) bestudeerden deze temperatuurbeïnvloeding bij de kabeljauw *Gadus morhua* L. Beneden de grenstemperatuur 2°C namen de Keys-Willmercellen toe in grootte en in aantal. De auteurs beschouwen deze toename als een compensatorisch antwoord op een verminderde zoutregeling. Van oktober tot juni heeft de kabeljauw in het bloed een verhoogd gehalte aan mineralen. Bij die lage temperatuur was het aantal mucuscellen verminderd, toestand die voor het kieuwepitheel een grotere doorlaatbaarheid voor zouten zou meebrengen.

KEYS-WILLMERCEN EN OP HET TIJDSTIP DER MIGRATIE



Salmo salar L. Smolt, juni 1962. Fig. 34. Zoet water. Kieuwfilament (x 400). Lengtesnede ter hoogte van de kieuwstraal. Keys-Willmercellen tussen de kieuwlamellen. Fig. 35. Zeewater 219 u. Kieuwfilament (x 400). Lengtesnede. Keys-Willmercellen tussen, aan de basis van, en op de kieuwlamellen. Fig. 36. De-tail van fig. 35. Keys-Willmercel (x 1000) met apicale groeve (▲).

De Keys-Willmercellen op het tijdstip der migratie

Bij de smolt hebben de Keys-Willmercellen op het tijdstip van de migratie een karakteristieke structuur (plaat XIII, fig. 34). Gemiddeld liggen drie tot vier regelmatig gevormde, ovoïde cellen tussen de kieuwlamellen in. De cellen zijn lichtelijk naar links of naar rechts gericht naar het bloedvat toe. Sporadisch komen er ook Keys-Willmercellen voor op de kieuwlamellen. De ronde kern, met nucleolus, ligt basaal in de cel. Het cytoplasma is korrelig; de korreling is vrij dens en regelmatig over de cel gespreid. Het kieuwfilament, in lengtedoorsnede, ter hoogte van de kieuwstraal vertoont daardoor aan beide zijden van die straal een regelmatige rij Keys-Willmercellen, die gemakkelijk te herkennen is, zelfs bij geringe vergroting.

Na het overbrengen van de smolt in zeewater is het voorkomen van zijn Keys-Willmercellen gewijzigd. De cel zelf is toegenomen in grootte, vooral volgens de lengte-as, en wel maximaal na een verblijf in zeewater gedurende 80 u.

De kern lijkt soms minder basaal te liggen doordat er nieuwe kernen bijkomen - wat bij de zoetwatersmolt eerder zelden voorkomt. Het cytoplasma vertoont een dense korreling, die zich apicaalwaarts accentueert. Aan de basis van de kieuwlamellen lopen de grote cellen langs die lamellen op.

Bij een langduriger verblijf van de smolt in zeewater, 219 u. b.v., behouden de Keys-Willmercellen (plaat XIII, fig. 35, 36) niet alle hetzelfde uitzicht. Naast cellen met gelijkmatige korreling, komen er voor zoals die, beschreven voor de gele paling uit de haven van Oostende, als de zoutwatervorm van de Keys-Willmercellen (plaat VI, fig. 13, 14). De korreling van het cytoplasma is evenals bij de paling, minder dens in de nabijheid van de kern, maar neemt toe in de bovenste helft. De cellen van deze tweede vorm vertonen een apicale groeve, zoals bij *Anguilla* L. (plaat VI, fig. 14).

De lengtesnede van het kieuwfilament gaat in uitzicht verschillen van deze welke hierboven beschreven werd voor de zoetwatersmolt op het

tijdstip der migratie. Links en rechts van de kieuwstraal is de laag Keys-Willmercellen niet meer regelmatig; de kieuwlamellen zijn aan de basis verbreed, wat reeds bij kleine vergroting is waar te nemen.

Om de g r o o t t e van de Keys-Willmercellen te bepalen werden, bij enkele individuen de grootste celdoorsneden uitgekozen. De kleinste en de grootste diameter, loodrecht op elkaar genomen, werden gemeten.

Keys-Willmercellen : kleinste en grootste celdiameter in μ

Smolt	10 / 16	Smolt	11 / 20
6.1962	12 / 15	6.1962	12 / 19
15,7 cm	13 / 15	16,2 cm	13 / 17
zoet water	12 / 14	zeewater 79 u 25	14 / 16
	10 / 12		10 / 20
	11 / 13		10 / 20
	12 / 14		10 / 19
	10 / 14		10 / 21
	12 / 13		10 / 18
	12 / 16		12 / 18
gemiddeld : $11,4 \pm 0,8$ / $14,2 \pm 0,9$		gemiddeld : $11,2 \pm 1,1$ / $18,8 \pm 1,1$	
Smolt	13 / 17	Smolt	9 / 17
6.1962	14 / 17	6.1962	13 / 15
18,4 cm	12 / 16	19,4 cm	11 / 16
zeewater 80 u 05	11 / 20	zeewater 219 u	13 / 16
	12 / 18		10 / 18
	10 / 22		10 / 16
	12 / 18		9 / 17
	11 / 21		12 / 16
	14 / 17		10 / 16
	11 / 19		13 / 13
gemiddeld : $12,0 \pm 1,0$ / $18,5 \pm 1,4$		gemiddeld : $11,0 \pm 1,2$ / $16,0 \pm 1,0$	

Bij de s m o l t verschillen de Keys-Willmercellen in grootte naargelang de saliniteit van het milieu. In juni, op het tijdstip der migratie is het verschil tussen de twee diameters gering. De cellen heb-

ben een ovoïde, bijna ronde vorm.

Bij het overzetten in zeewater wordt het verschil tussen de diameters groter. Volgens de lengteas verbinden deze cellen de bloedcapillairen met het uitwendig milieu. De grootste afmetingen komen voor na een verblijf in zeewater gedurende 80 u.

Na een langduriger verblijf in zeewater (219 u.) waren de cellen in aantal toegenomen, hun grootte daarentegen was verminderd ten opzichte van deze van het 80-uren verblijf.

Het aantal Keys-Willmercellen is berekend voor *Salmo salar* L. zoals voor *Anguilla anguilla* L. en voor *Hucho hucho* L. werd gedaan, op honderd lamellenbassissen na elkaar genomen en dit op een lengtesnede doorheen het kieuwfilament ter hoogte van de kieuwstraal.

Bij de smolt op het tijdstip der migratie in juni 1962, is het gemiddeld aantal 3,72, met een spreiding van 1 - 7. Bij het overbrengen vanuit zoet water in zeewater van éézelfde temperatuur van 3,8°C, is er een toename van de spreiding en stijgt het gemiddeld aantal cellen merkkelijk.

De Keys-Willmercellen buiten het tijdstip der migratie

Bij de smolt uit dezelfde populatie - maar weerhouden in zoet water - hebben in december daaropvolgend de Keys-Willmercellen geringer afmetingen dan op het tijdstip der migratie en wordt de celgrootte weinig beïnvloed door het verblijf in zeewater.

Keys-Willmercellen : kleinste en grootste celdiameter in μ

Smolt	11 / 13	Smolt	13 / 13
12.1962	10 / 14	12.1962	12 / 13
22,5 cm	11 / 14	21,5 cm	10 / 12
zoet water	11 / 13	zeewater 91 u 33	10 / 16
	12 / 14		9 / 13
	9 / 16		9 / 16
	9 / 16		12 / 12
	10 / 12		9 / 14
	10 / 12		8 / 14
	9 / 13		9 / 12
gemiddeld : $10,2 \pm 0,7 / 13,7 \pm 1,0$		gemiddeld : $10,1 \pm 1,2 / 13,5 \pm 1,1$	

Het gemiddeld aantal cellen was tijdens het verblijf in zoet water gedaald tot 2,66; de spreiding tot 0 - 5. Bij verblijf in zeewater bleven aantal (gemiddeld 2,76) en spreiding (0 - 5) van de Keys-Willmercellen nagenoeg dezelfde.

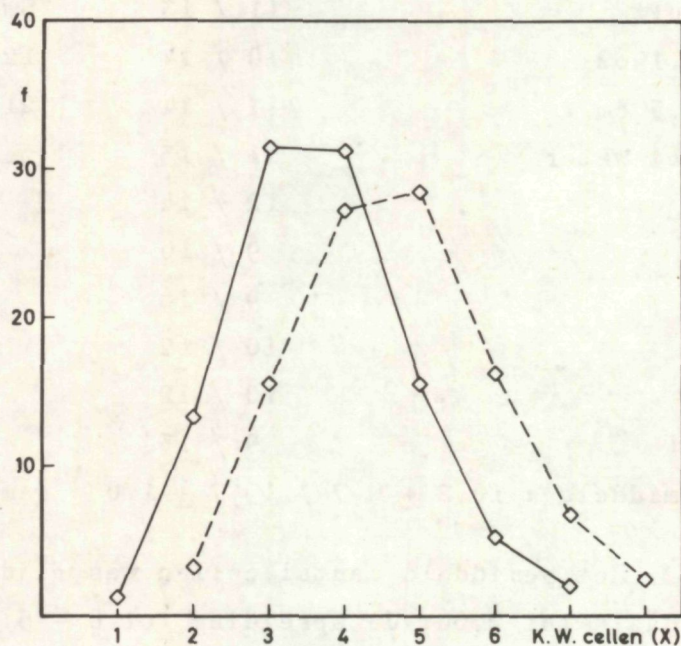
Ter vergelijking volgt hier het detail van de spreiding der Keys-Willmercellen in de kieuwen van de zalmen bij verblijf in zoet water en in zeewater op het tijdstip der migratie (juni 1962) en daarbuiten (december 1962).

Het frequentiepolygoon verduidelijkt de resultaten. Deze resultaten kunnen samengevat worden in de overzichtelijke tabel op p. 92 waarin ook de eindresultaten van het celonderzoek zijn genoteerd.

SPREIDING VAN DE KEYS-WILLMERCCELLEN

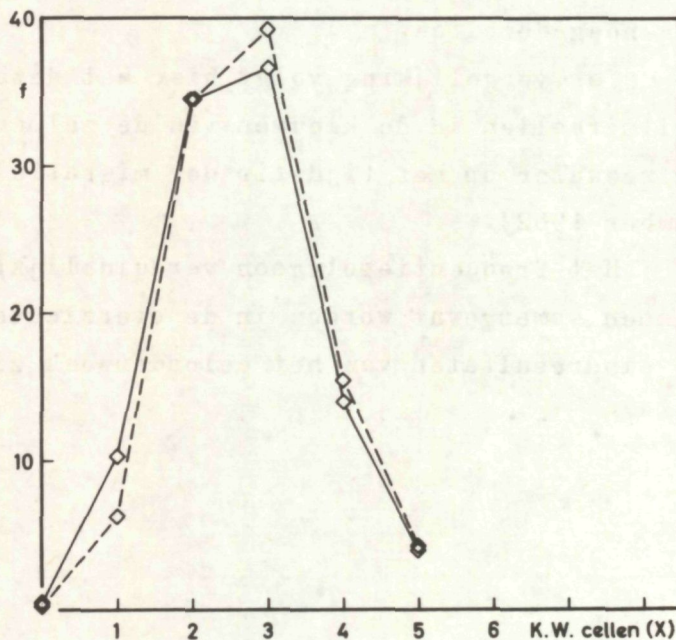
Experiment juni 1962

— in zoet water
 ---- in zeewater



Experiment december 1962

— in zoet water
 ---- in zeewater



Salmo salar L. Smolt 1962. Bij het plots overbrengen vanuit zoet water (4°C) in vol zeewater (4°C) stijgt op het tijdstip der migratie (juni) het gemiddeld aantal Keys-Willmercellen en is er een toename in de spreiding dezer cellen. Weerhouden in zoet water is in december daaropvolgend aantal en spreiding der Keys-Willmercellen gedaald. Bij het overbrengen in zeewater op dit tijdstip is er geen toename in aantal, noch in spreiding.

SPREIDING VAN DE KEYS-WILLMERCCELLEN S a l m o s a l a r L.

Experiment juni 1962

Basispunt in zoet water

Verblijf in zeewater : 68u30 - 121u28

X	-	-	-	-	f	f : 4	X	68u	69u	79u	80u	121u	f	f : 5		
1	3	-	--	2	5	1,25	2	2	1	7	5	1	16	3,2		
2	7	15	17	14	53	13,25	3	16	10	25	15	12	78	15,6		
3	36	32	25	33	126	31,50	4	27	30	28	29	22	136	27,2		
4	30	32	33	30	125	31,25	5	28	25	25	30	35	143	28,6		
5	18	13	14	17	62	15,50	6	17	22	9	15	18	81	16,2		
6	5	5	8	3	21	5,25	7	7	8	6	6	7	34	6,8		
7	1	3	3	1	8	2,00	8	3	4	-	-	5	12	2,4		
					N=400	N'=100									N=500	N'=100

Experiment december 1962

Basispunt in zoet water

Verblijf in zeewater : 71u35 - 117u15

X	-	-	-	f	f : 3	X	71u	91u	91u	95u	99u	117u	f	f : 6	
0	1	-	-	1	0,33	0	1	-	-	-	-	-	1	0,16	
1	9	12	10	31	10,33	1	7	7	6	9	6	3	38	6,33	
2	34	31	39	104	34,66	2	34	35	33	39	34	33	208	34,66	
3	37	38	35	110	36,66	3	39	39	45	29	40	43	235	39,16	
4	11	18	13	42	14,00	4	15	13	14	19	16	16	93	15,50	
5	8	1	3	12	4,00	5	4	6	2	4	4	5	25	4,16	
				N=300	N'=100									N=600	N'=100

K = aantal Keys-Willmercellen per lamellenbasis

f = frequentie

N = aantal tellingen

N' = 100 tellingen uitgezet in het frequentiepolygoon.

SALMO SALAR L.

Experiment : I juni (3,8°C) - II december (4°C) 1962

Verblijf in zeewater	Lengte in cm	Gewicht in g	Geslacht	Keys-Willmercellen			Gemiddelde waarde	Probabiliteitstest P	
				Celdiameter in μ	Spreiding	Aantal		Standaard- deviatie	"Student's"-t n vrijheidsgraden
-	15,7		♀	11,4/14,2	1-7	372	$\bar{X} = 3,70$	S = 1,191	t = 11,637
-	16,1		♂		2-7	370			
-	15,9		♂		2-7	380			
-	15,4		♂		1-7	359			
20 u 37	17,3		♀	11,2/18,8 12,0/18,5	2-8	414	$\bar{X} = 4,69$	S = 1,319	P < 0,001
21 u 05	17,4		♂		2-7	427			
21 u 35	15,5		♂		2-7	439			
22 u 05	17,7		♂		2-8	442			
26 u 15	15,3		♂		2-8	466			
26 u 42	15,7		♀		2-7	413			
27 u 05	18,8		♂		2-7	394			
44 u 22	19,2		♀		2-9	453			
44 u 55	17,1		♀		2-8	443			
68 u 30	17,0		♀		2-8	475			
69 u 05	15,1		♂	11,0/16,0	2-8	501	$\bar{X} = 5,36$	S = 1,375	t = 12,081
79 u 25	16,2		♂		2-8	497			
80 u 05	18,4		♂		2-7	422			
121 u 28	15,4		♂		2-7	453			
121 u 28	15,4		♂		2-8	498			
163 u 50	15,2		♀		2-8	501			
164 u 33	18,0		♀		2-8	506			
165 u 35	15,0		♂		2-8	490			
217 u 05	16,5		♀		2-8	527			
217 u 30	15,6		♀		3-8	532			
218 u 00	16,9		♂		3-8	549			
218 u 30	16,2		♂		2-8	517			
219 u 00	19,4		♀		2-8	536			
-	18,9	61,8	♂	10,2/13,7	0-5	272	$\bar{X} = 2,66$	S = 0,987	t = 1,532
-	22,5	94,6	♀		1-5	265			
-	21,5	79,5	♀		1-5	260			
-	21,5	79,5	♀		1-5	260			
23 u 50	21,2	74,0	♀	10,1/13,5	1-5	276	$\bar{X} = 2,76$	S = 0,939	0,1 < P < 0,2
25 u 00	24,0	97,1	♀		1-5	272			
26 u 00	19,6	61,0	♂		0-5	278			
45 u 11	19,7	64,0	♂		1-5	279			
50 u 02	17,6	42,5	♂		0-5	265			
71 u 35	20,8	68,0	♀		0-5	272			
91 u 03	21,0	65,0	♂		1-5	276			
91 u 33	21,5	71,0	♂		1-5	273			
95 u 05	21,6	74,5	♀		1-5	270			
99 u 20	20,9	65,0	♀		1-5	278			
117 u 15	21,0	69,5	♂		1-5	287			

Experiment juni - december 1962

Vergelijking en statistische verwerking der resultaten

De resultaten van het onderzoek der Keys-Willmercellen genoteerd op de algemene tabel p. 92 en in het frequentiepoygoon laten meerdere vergelijkingen toe.

Vooreerst : de d u u r van het experiment. Als beginpunt voor elk der experimenten werd genomen een groep smolts respectievelijk uit zoet water van 3,8 en 4°C.

Eindpunt voor het juni-experiment vormde smolts na 219 u verblijf in zeewater; de smolts waren dan alle nog in goede conditie.

Voor het december-experiment was de uiterste tijdsduur 117 u 15. Hoewel dit experiment in dezelfde standaardvoorwaarden verliep als het juni-experiment, gingen bij een langduriger verblijf in zeewater alle visen dood (Persoonlijke mededeling van Prof. KOCH).

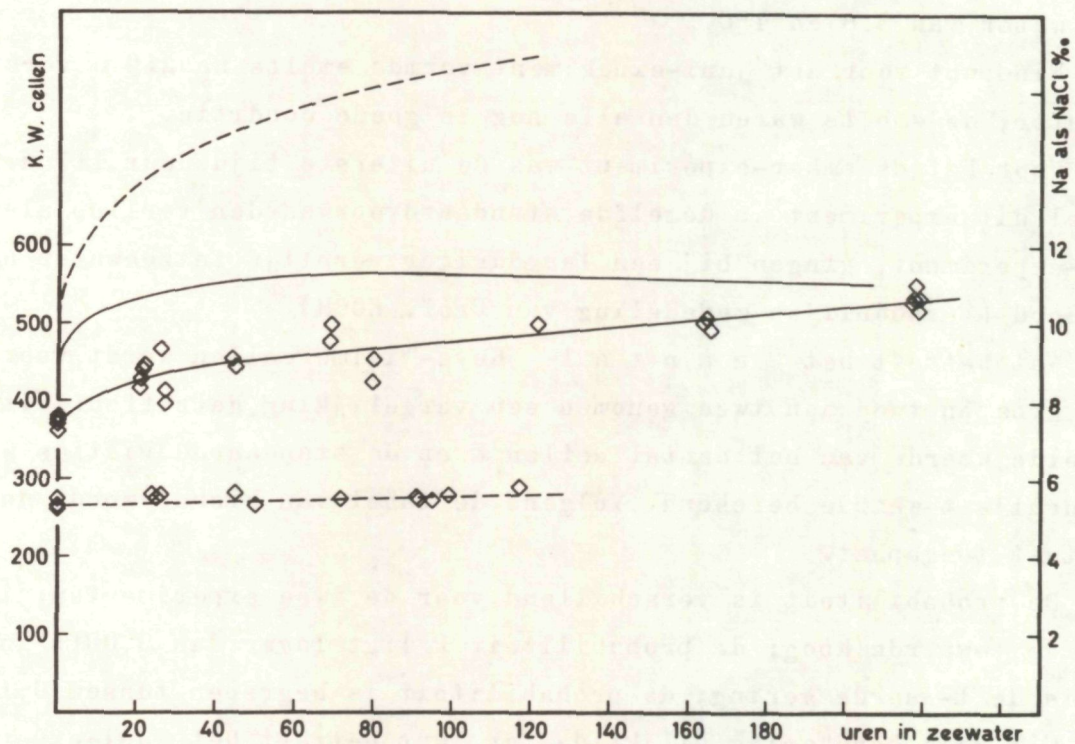
Wat betreft het a a n t a l Keys-Willmercellen wordt voor meerdere groepen twee aan twee genomen een vergelijking getroffen. Uit de gemiddelde waarde van het aantal cellen $\bar{X}$ en de standaarddeviaties wordt de "Student's t-waarde berekend. Volgens de tabel van Fisher wordt de probabilliteit toegepast.

De probabiliteit is verschillend voor de twee experimenten; in juni ligt de t-waarde hoog; de probabiliteit P ligt lager dan 0,001; in december is de t-waarde gering; de probabiliteit is begrepen tussen 0,1 en 0,2.

Uit deze berekening blijkt dat er, wat betreft het juni-experiment, zeer hoge waarschijnlijkheid bestaat dat het waargenomen verschil in aantal cellen aan een andere oorzaak toe te schrijven is dan aan het toeval. Uit de t-waarde bij verblijf in zeewater gedurende 68 u 30 tot 121 u 28 ($t = 11,637$) en de t-waarde bij een verblijf van 219 u ($t = 12,081$) blijkt duidelijk dat het verschil in aantal Keys-Willmercellen zich accentueert door een langer verblijf in zeewater. De berekening voor het december-experiment wijst even duidelijk uit dat op dit tijdstip van het jaar het verschil in aantal Keys-Willmercellen gering is.

Blijven te vergelijken de beginpunten van de twee experimenten. Uit de gemiddelde waarde voor het aantal Keys-Willmercellen in elk der groepen

AANTAL KEYS-WILLMERCELLEN IN VERBAND MET DE
MINERALE REGULATIE BIJ DE ATLANTISCHE ZALM



Salmo salar L. Smolt 1962. Toename in aantal Keys-Willmercellen na het plots overbrengen van de proefdieren vanuit zoet water (4°C) naar vol zeewater (4°C) in juni. Uitblijven van die toename in december. Verandering in de natriumconcentratie van het bloed bij de proefdieren.

K.W. cellen —◇— juni
 --◇-- december

NaCl ‰ — juni
 ----- december

$$\bar{X} = 3,70$$

$$\bar{X} = 2,66$$

en uit de standaarddeviaties

$$S^2 = 1,417537$$

$$S^2 = 0,975366$$

$$S = 1,191$$

$$S = 0,987$$

volgt een hoge waarde voor "Student's t"

$$t = 12,359$$

De probabiliteit volgens tabel FISHER voor $n = 698$ aantal vrijheidsgraden is

$P < 0,001$

Hieruit blijkt dat op het tijdstip der migratie (juni 1962) nog vóór het contact met zeewater het aantal Keys-Willmercellen sterk was toegenomen, maar dat bij de dieren weerhouden in zoet water, dit hoge aantal niet behouden blijft (december 1962).

A a n t a l K e y s - W i l l m e r c e l l e n e n m i n e r a l e r e g u l a t i e

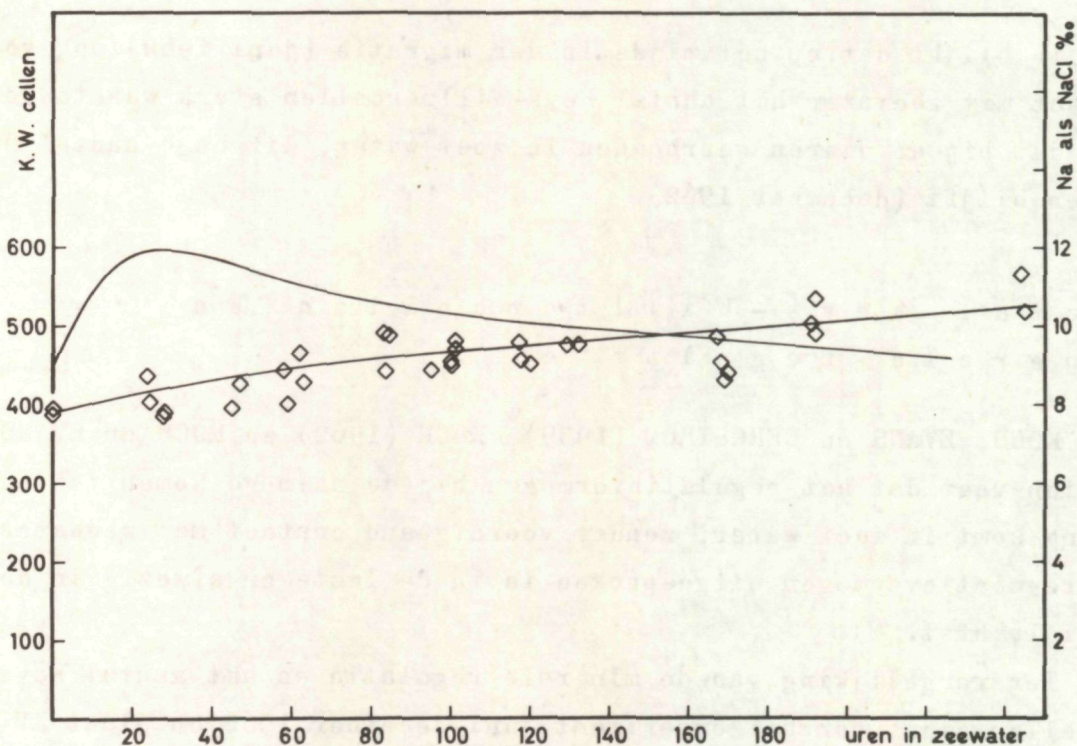
KOCH, EVANS en BERGSTRÖM (1959), KOCH (1962) en KOCH en EVANS (1962) stellen vast dat het regulatievermogen bij de zalm volkomen tot ontwikkeling komt in zoet water, zonder voorafgaand contact met zeewater en dat dit regulatievermogen uitgesproken is in de lente en afwezig in de winter (deel I, hfst. 4).

Ter vergelijking van de minerale regulatie en het aantal Keys-Willmercellen zijn voor het experiment juni-december 1962 op plaat XV in grafiek, uitgezet tegenover het aantal uren dat de zalmen in zeewater verbleven, het Na-gehalte (omgerekend in NaCl ‰) in het bloed van de proefdieren (Prof. KOCH, niet gepubliceerde resultaten) en het aantal Keys-Willmercellen in de kieuwen van deze proefdieren.

De krommen geven duidelijk weer dat op het tijdstip van de zeewaartse migratie (juni 1962) bij het plots overbrengen in zeewater op 3,8°C, de zalmen de zoutconcentratie van hun bloed regelen en dat de Keys-Willmercellen reeds talrijk aanwezig tijdens het verblijf in zoet water, toenemen in aantal.

De zalmen die, in juni weerhouden in zoet water, in december plots

ACTIEF MIGRERENDE ZALMEN



Salmo salar L. Smolt, april 1961. Toename in aantal Keys-Willmercellen na het plots overbrengen van de proefdieren vanuit zoet water naar vol zeewater (temperatuur 5° - 7°C). Regeling in natrium-gehalte van het bloed van de proefdieren.

◇ — K.W. cellen
— NaCl ‰

werden overgezet in zeewater van 4°C regelen de zoutconcentratie van hun bloed niet. Zij gaan dood met een hoge natremie (KOCH en EVANS 1962). De Keys-Willmercellen, gering in aantal in het zoet water, nemen bij het contact met zeewater niet toe in aantal. Zo blijkt er correlatie te bestaan tussen de ontwikkeling van de Keys-Willmercellen en de minerale regulatiecapaciteit van de Atlantische zalm.

A c t i e f - m i g r e r e n d e z a l m e n

De Keys-Willmercellen werden ook geteld en gemeten bij een reeks wilde zalmen in de smolt-fase, in april 1961 gevangen in de Högvaldsån-rivier in Zweden tijdens hun zeewaartse migratie. De zalmen werden experimenteel overgebracht van zoet water in zeewater bij éénzelfde temperatuur (KOCH en EVANS 1962).

De numerische resultaten van celgrootte en aantal Keys-Willmercellen zijn zeer gelijkend op die van het experiment in juni 1962 voor de kweekzalmen van Hölle.

Tegenover het verblijf in zeewater werden ook hier in grafiek uitgezet de Na-concentratie (berekend als NaCl ‰) in het bloed van deze zalmen (Prof. KOCH, niet gepubliceerde resultaten) en het aantal Keys-Willmercellen in de kieuwen van de proefdieren.

Al schakelde aanvankelijk de zoutregeling er de toename in aantal Keys-Willmercellen minder intens in dan in juni 1962, zo treedt toch voor deze wilde zalmen duidelijk naar voren, de correlatie tussen de ontwikkeling van de Keys-Willmercellen en de minerale regulatiecapaciteit van de Atlantische zalm.

Actief-migrerende zalmen - april 1961

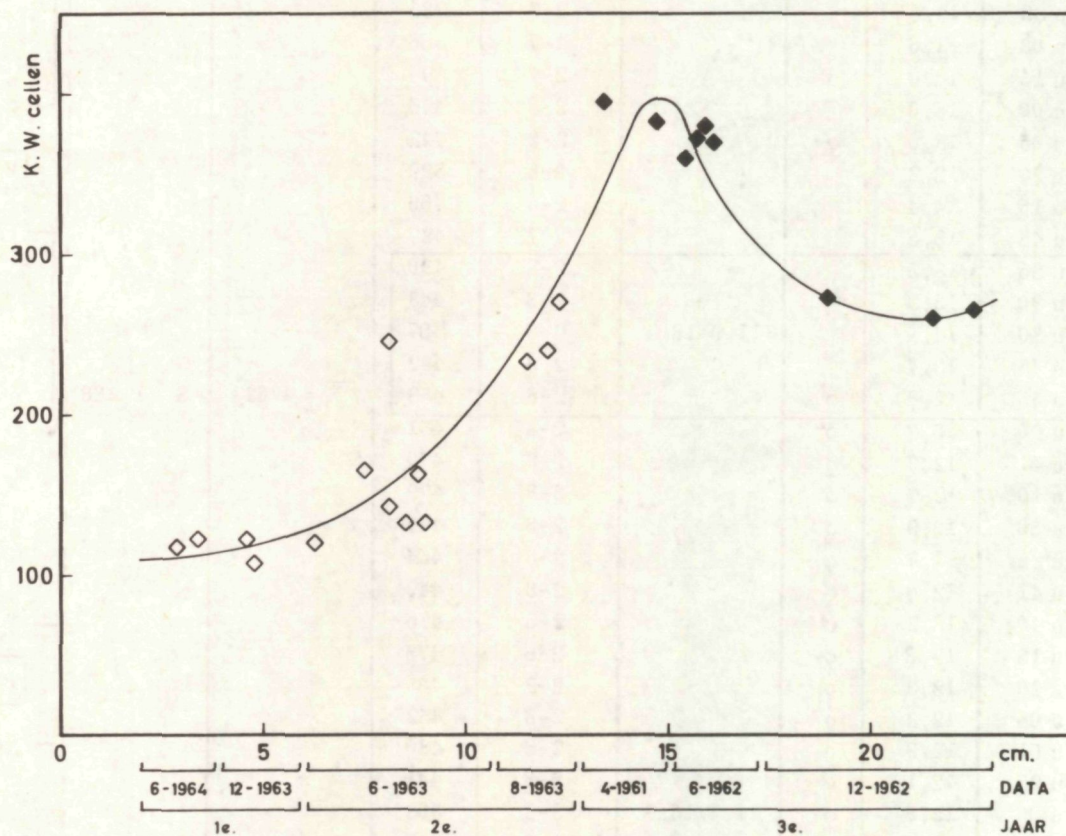
Keys-Willmercellen : kleinste en grootste celdiameter in μ

zoet water	zeewater 84 u 30	zeewater 191 u 05
10 / 14	12 / 18	13 / 20
11 / 14	10 / 20	14 / 16
11 / 13	10 / 21	12 / 16
10 / 14	11 / 20	12 / 15
10 / 14	13 / 20	11 / 18
9 / 18	10 / 18	11 / 18
10 / 14	12 / 15	10 / 17
12 / 13	12 / 16	9 / 17
12 / 14	14 / 17	9 / 18
14 / 14	15 / 18	13 / 14
gemiddeld: $10,9 \pm 1,0/14,2$	$11,9 \pm 1,2/18,3 \pm 1,4$	$11,4 \pm 1,2/16,9 \pm 1,2$

ACTIEF - MIGRERENDE ZALMEN *Salmo salar* L.
Experiment april 1961

Verblijf in zeewater 5°-7° C	Lengte in cm	Geslacht	Keys-Willmercellen			Gemiddelde waarde	Probabiliteitstest P	
			Celdiameter in μ	Spreiding	Aantal		Standaard- deviatie	"Student's"-t n vrijheidsgraden
-	13,4			2-8	395	$\bar{X} = 3,89$	S = 1,227	t = 6,957 P < 0,001 voor n = 698
-	14,7	♂	10,9/14,2	2-8	383			
23 u 29	11,8	♂		2-7	435			
24 u 25	14,3			2-7	403			
27 u 33	11,6			2-7	385			
28 u 03	11,6			1-7	388			
45 u 15	14,0	♂		2-7	394			
47 u 00	15,0			2-8	426			
58 u 05	13,8	♀		2-8	443			
59 u 20	12,2			2-8	399			
62 u 15	14,4			2-8	466	$\bar{X} = 4,63$	S = 1,288	t = 11,278 P < 0,001 voor n = 398
62 u 45	13,5			2-7	427			
82 u 55	13,5			2-8	490			
83 u 30	13,3		11,9/18,3	2-8	443			
84 u 30	14,4			2-8	487			
94 u 45	13,4			2-8	442			
99 u 55	12,8	♀		2-8	453			
100 u 20	15,7	♂		2-8	451			
100 u 41	12,7	♀		2-8	470			
101 u 10	12,7	♂		3-8	479			
116 u 50	13,9	♀		2-8	477	$\bar{X} = 5,42$	S = 1,482	
117 u 25	11,7	♀		2-8	454			
119 u 41	12,6	♀		2-8	449			
128 u 40	13,2	♂		2-8	476			
132 u 15	12,8	♀		2-8	475			
167 u 26	12,3	♀		2-9	485			
168 u 05	12,3	♀		2-8	452			
169 u 51	12,9	♀		2-8	430			
170 u 25	12,1	♂		2-8	441			
191 u 05	12,8	♀	11,4/16,9	3-8	503			
192 u 21	12,3	♀		3-8	536			
192 u 56	12,5	♀		3-8	491			
244 u 00	13,5	♀		2-9	564			
244 u 40	13,4	♀		2-9	517			

KEYS-WILLMERCELLEN IN PARR- EN SMOLT-FASE



Salmo salar L. Aantal Keys-Willmercellen in de parr- en in de smolt-fase bij verblijf in zoet water op verschillende tijdstippen van het jaar.

◇ parr

◆ smolt

Keys-Willmercellen in parr- en smoltfase

De Keys-Willmercellen op het tijdstip van de zeewaartse migratie kunnen vergeleken worden met die van de parr (plaat III, fig. 2).

De parr, evenals de gele paling uit het zoet water (plaat VI, fig. 16), vertoont in de kieuwen twee vormen van Keys-Willmercellen, de eerste vorm met gelijkmatige dichte korreling als bij de smolt en een tweede vorm, minder dens die lijkt op die voor *Huc ho huc ho* L. als zoetwatervorm werd beschreven (deel II, hfst. 3, plaat VI, fig. 15).

Bij de parr zijn de Keys-Willmercellen van beide typen klein van afmeting. De celdiameters zijn ongeveer gelijk in grootte zodat de cel rond is of ovoïde; dit is vooral het geval bij de vorm met dense korreling, die ligt midden tussen twee kieuwlamellen in. De cellen die zijdelings liggen ten opzichte van die dense vorm, zijn langwerpig en verbinden volgens hun kortste as de bloedcapillairen met het uitwendig milieu. Vooral de vorm met lichte korreling ligt zó breeduit in het kieuw-epitheel (plaat VII, fig. 18).

Uit de celmetingen van de parr in het eerste en in het tweede levensjaar en vooral uit de berekende gemiddelde afmetingen blijkt dat er met de toename in leeftijd een toename is in grootte van de Keys-Willmercellen.

In de smolt-fase op het tijdstip van de zeewaartse migratie (april, juni) zijn de Keys-Willmercellen toegenomen in grootte, nog tijdens het verblijf in zoet water. Wordt op dit tijdstip de smolt weerhouden in zoet water dan verkrijgen de Keys-Willmercellen (december) opnieuw de afmetingen van diezelfde cellen in de parr-fase.

Het aantal Keys-Willmercellen is bij de parr-vrij gering; het stijgt met de leeftijd. Op het tijdstip van de zeewaartse migratie is er bij de smolt nog tijdens zijn verblijf in zoet water een plotse toename. Bij de smolt die in zoet water wordt weerhouden daalt het aantal cellen, zodat in structuur, in grootte en in aantal de Keys-Willmercellen terug lijken op die van de parr.

S a l m o s a l a r L. Parr- en smolt-fase

Keys-Willmercellen : kleinste en grootste celdiameter in μ

Parr 2,9 cm 17.6.1964

9 / 13
 8 / 14
 9 / 11
 9 / 10
 10 / 11
 9 / 10
 8 / 12
 8 / 12
 10 / 13
 8 / 12

gemiddeld : $8,8 \pm 0,6 / 11,8 \pm 0,9$

Parr 4,8 cm 5.12.1963

11 / 11
 10 / 10
 11 / 11
 10 / 12
 8 / 13
 9 / 12
 8 / 14
 8 / 14
 8 / 14
 10 / 10

 $9,3 \pm 1,4 / 12,1 \pm 1,1$

Parr 9,0 cm 4.6.1963

8 / 15
 10 / 14
 11 / 14
 9 / 13
 11 / 12
 11 / 12
 9 / 12
 8 / 17
 11 / 12
 10 / 14

gemiddeld : $9,8 \pm 0,9 / 13,5 \pm 1,2$

Parr 12,0 cm 10.8.1963

9 / 12
 8 / 12
 9 / 14
 10 / 14
 12 / 16
 10 / 14
 11 / 16
 12 / 14
 10 / 14
 11 / 14

 $10,2 \pm 0,9 / 14 \pm 1,0$ Smolt 14,7 cm
4.1961

10 / 14
 11 / 14
 11 / 13
 10 / 14
 10 / 14
 9 / 18
 10 / 14
 12 / 13
 12 / 14
 14 / 14

Smolt 15,7 cm
6.1961

10 / 16
 12 / 15
 13 / 15
 12 / 14
 10 / 12
 11 / 13
 12 / 14
 10 / 14
 12 / 13
 12 / 16

Smolt 22,5 cm
12.1962

11 / 13
 10 / 14
 11 / 14
 11 / 13
 12 / 14
 9 / 16
 9 / 16
 10 / 12
 10 / 12
 9 / 13

Gemidd.: $10,9 \pm 1,0 / 14,2 \pm 1,0; 11,4 \pm 0,8 / 14,2 \pm 0,9; 10,2 \pm 0,7 / 13,7 \pm 1,0$

S a l m o s a l a r L.

Verblijf in zoet water : p a r r (1) en s m o l t (2)

Leeftijd	Datum van de vangst	Lengte in cm	Geslacht	Keys-Willmercellen			
				Celdiameter in μ	Spreiding	Aantal	Gemiddelde waarde
1. 1 ^e jaar	17.6.1964	2,9		8,8/11,8	0 - 2	118	$\bar{X} = 1,20$
		3,4			0 - 2	122	
	5.12.1963	4,6 4,8		9,3/12,1	0 - 3 0 - 2	123 108	$\bar{X} = 1,16$
2e jaar	4.6.1963	6,3		9,8/13,5	0 - 2	120	$\bar{X} = 1,57$
		7,5			0 - 4	166	
		8,1			0 - 3	143	
		8,1			0 - 5	246	
		8,5			0 - 3	133	
		8,8			0 - 4	162	
		9,0			0 - 3	132	
	10.8.1963	11,5		10,2/14,0	0 - 4	233	$\bar{X} = 2,48$
		12,0			0 - 4	241	
		12,3			0 - 5	269	
2. 3e jaar	4.1961	13,4		10,9/14,2	2 - 8	395	$\bar{X} = 3,89$
		14,7	σ		2 - 8	383	
	6.1962	15,4	σ	11,4/14,2	1 - 7	359	$\bar{X} = 3,70$
		15,7	φ		1 - 7	372	
		15,9	σ		2 - 7	380	
		16,1	σ		2 - 7	370	
	12.1962	18,9	σ	10,2/13,7	0 - 5	272	$\bar{X} = 2,66$
		21,5	φ		1 - 5	260	
		22,5	φ		1 - 5	265	

Zalmen in het adult stadium

Zalmen in het adult stadium konden we bekomen uit het zoet water van de Högvadsån-rivier en uit de zee te Trondheim (Noorwegen) en te Falkenberg (Zweden) in zee vóór hun stroomopwaartse migratie.

Van de kelt - zalmen (deel I, hfst.4) uit de Högvadsån-rivier onderzochten we drie exemplaren. Het aantal Keys-Willmercellen was gering en vertoonde vrij grote individuele verschillen. Het voorkomen van mucuscellen op de kieuwlamellen was zeer opvallend; hiervoor waren de individuele verschillen nog groter dan voor de Keys-Willmercellen. Mucus- en Keys-Willmercellen waren echter onderling zeer verschillend in vorm, in grootte, in kleuropname, in ligging. Bij de kelt bevonden zich de Keys-Willmercellen uitsluitend aan de basis van de kieuwlamellen tussen de bloedbaan en het uitwendig milieu. De mucuscellen bevonden zich, behalve in het epitheel van de kieuwbalk, ook op het vrije gedeelte van de kieuwlamellen. Het zijn deze laatste mucuscellen die geteld werden op eenzelfde snede doorheen de kieuwstraal waarop de Keys-Willmercellen geteld werden.

Kelt - zalm uit de Högvadsån-rivier in Zweden

Datum van de vangst	Lengte in cm	Gewicht in g	Keys-Willmercellen			Mucuscellen		
			Spreading	Aantal	Gemidd. waarde	Spreading	Aantal	Gemidd. waarde
14.4.1961	77		0 - 6	307		0 - 8	214	
26.3.1965	56	965	0 - 5	197		0 - 6	157	
6.5.1966	57	875	0 - 6	224	$\bar{X}=2,43$	0 - 6	80	$\bar{X}=1,50$

De Keys-Willmercellen werden ook geteld bij de adulte zalmen uit zeewater. De aantallen waren dubbel zo hoog als die van de kelt. Het hoogste gemiddeld aantal $\bar{X} = 5,51$ kwam voor bij de groep gemerkte dieren uit Trondheim die 2 of 3 jaar in zeewater verbleven. Vergeleken bij de smolt uit het experiment juni 1962 die 219 u in zeewater verbleef en waarvoor $\bar{X} = 5,36$ voorkwam, rekening houdend met individuele verschillen, kan worden verondersteld dat de smolt op het tijdstip der migratie in ± 10 dagen komt tot het maximaal aantal Keys-Willmercellen.

S a l m o s a l a r L.

Grote zalmen uit zeewater 1. Trondheim (Noorwegen) 2. Falkenberg (Zweden)

Groep	Lengte in cm	Gewicht in kg		Keys-Willmercellen			
				Celdiame- ter in	Sprei- ding	Aantal	Gemidd. waarde
1. Experimenteel in zeewater 9.9.1964/9.12.1964	20	0,170	♀		2 - 10	522	
	26	0,160	♂		3 - 10	527	
	22	0,132	♀		2 - 10	521	
	23	0,175	♀		2 - 10	497	
	27	0,170	♂		2 - 10	490	$\bar{X}=5,11$
Verblijf in zee (gemerkt)							
aantal jaren ± 2	42		♂	14/21	3 - 10	564	
± 3	48		♀		2 - 9	496	
± 3	49		♂		3 - 9	564	
± 3	50		♂		2 - 9	579	$\bar{X}=5,51$
vangst 11.12.1964							
Stroomwaarts migrerend vangst 6.12.1964	31		♂		3 - 8	499	
	32		♀		2 - 9	526	
	32		♀		2 - 8	486	
	23		♂		2 - 8	468	$\bar{X}=4,95$
2. Verblijf in zee : onbepaald							
vangst 4.6.1964	81	4,7	♀		2 - 9	490	
4.6.1965	82	4,4	♀		2 - 9	487	
4.6.1965	70	3,2			2 - 8	485	$\bar{X}=4,87$
Stroomopwaarts migrerend	76	4,3	♀		3 - 8	508	
vangst 3.5.1966	78	3,9	♀		3 - 8	498	
	79	4,3	♀		2 - 8	489	$\bar{X}=4,98$

D w e r g z a l m e n " B l e g e "

De "Blege" zalmen, alhoewel zij behoren tot de soort *S a l m o s a l a r* L. verschillen van de Atlantische zalm niet alleen door hun dwerggroei.

In januari 1967, plots overgebracht van zoet water naar zeewater bij ééNZelfde temperatuur van 8°C, bleven deze dwergzalmen in leven; zij regelden de zoutconcentratie van hun bloedplasma (Persoonlijke mededelingen van Prof. KOCH).

De Keys-Willmercellen vertoonden de zoetwatervorm en de zoutwatervorm respectievelijk bij verblijf in zoetwater en in zeewater.

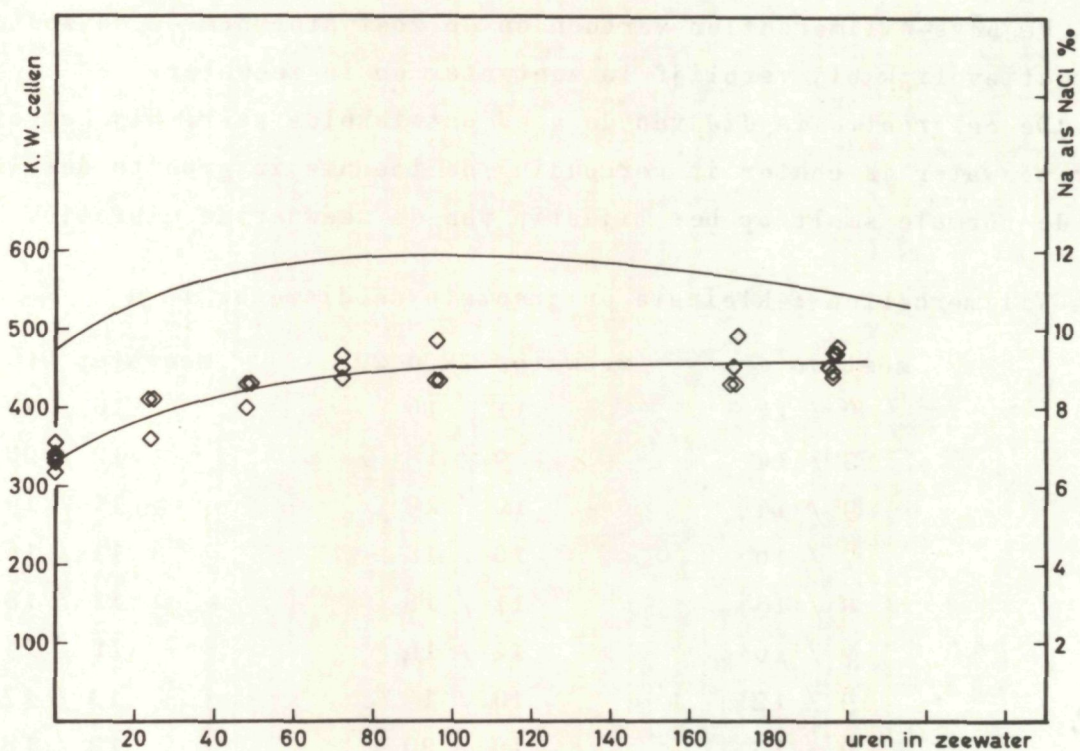
De celgrootte is die van de goed ontwikkelde parr. Bij het overzetten naar zeewater is echter in verhouding de toename in grootte dezelfde als bij de normale smolt op het tijdstip van de zeewaartse migratie.

Keys-Willmercellen : kleinste en grootste celdiameter in μ

zoet water	zeewater 72 u 20	zeewater 216 u 05
9 / 14	11 / 16	10 / 20
8 / 14	9 / 18	12 / 20
9 / 14	10 / 19	11 / 19
7 / 16	10 / 18	11 / 16
8 / 15	11 / 18	11 / 18
7 / 16	12 / 16	11 / 15
9 / 12	10 / 15	10 / 17
9 / 13	10 / 20	12 / 18
10 / 13	10 / 18	10 / 18
9 / 11	13 / 18	9 / 20

GEMIDDELD: $8,5 \pm 0,7$ / $13,8 \pm 1,1$; $10,6 \pm 0,8$ / $17,6 \pm 1,1$; $10,7 \pm 0,7$ / $18,1 \pm 1,2$

DWERGZALMEN "BLEGE"



Salmo salar L. Smolt, januari 1967. Aantal Keys-Willmercellen na plots overbrengen van de dwergzalmen vanuit zoet water (8°C) in vol zeewater (8°C). Verandering van de natriumconcentratie in het bloed van de proefdieren.

—◇— K.W. cellen
 — NaCl ‰

SALMO SALAR L.
 Dwergzalmen "Blege" uit Bygglandsfjord, Noorwegen
 Experiment januari 1967

Verblijf in zeewater 8° C	Lengte in cm	Gewicht in g	Geslacht	Keys-Willmercellen			Gemiddelde waarde	Probabiliteitstest P	
				Celdiameter in μ	Spreiding	Aantal		Standaard- deviatie	"Student's"-t n vrijheidsgraden
-	16,0	29,5	♂	8,5/13,8	1-5	332	$\bar{X} = 3,36$	S = 1,179	t = 14,410
-	16,9	33,9	♂		1-7	336			
-	15,7	29,4	♂		1-6	317			
-	18,6	46,9	♀		1-6	340			
-	16,0	30,3	♂		1-7	356			
23 u 40	15,2	25,8	♀	10,7/18,1	2-8	408	$\bar{X} = 4,50$	S = 1,405	P < 0,001
24 u 00	17,3	42,7	♀		1-7	360			
24 u 20	14,7	22,5	♀		2-7	409			
47 u 40	15,8	27,6	♂		1-8	400			
48 u 00	16,9	36,0	♀		2-8	429			
48 u 20	16,4	32,6	♂		2-7	429			
71 u 40	15,7	29,2	♀		2-8	465			
72 u 00	15,6	27,1	♀		2-8	437			
72 u 20	14,7	20,2	♂		2-8	450			
95 u 40	17,0	36,6	♂		2-8	433			
96 u 00	16,5	29,9	♀		2-8	432			
96 u 20	15,5	24,0	♂		2-8	485			
170 u 45	19,2	47,9	♂	10,6/17,6	2-8	431		S = 1,483	t = 13,321
171 u 05	14,6	21,6	♂		2-8	453			
171 u 25	14,6	22,8	♂		2-8	433			
171 u 45	18,7	44,8	♂		2-8	493			
215 u 30	20,6	53,7	♀		2-8	452			
215 u 50	18,4	43,6	♂	10,6/17,6	2-8	446	$\bar{X} = 4,78$	S = 1,483	voor n = 598
216 u 05	16,1	28,9	♂		2-8	441			
216 u 25	18,7	46,4	♂		2-8	471			
216 u 45	18,2	41,0	♀		2-8	470			
217 u 05	15,3	24,3	♀		2-8	487			

Het aantal Keys-Willmercellen ($\bar{X} = 3,36$) bij verblijf in zoet water benaderde dat van de smolt in juni ($\bar{X} = 3,72$). Bij het overzetten naar zeewater had er een toename plaats tot $\bar{X} = 4,50$ voor een verblijf van 71 u 40 - 96 u 20. In juni 1962 bedroeg dit voor de smolt $X = 4,69$ voor een verblijf van 68 u 30 tot 121 u 28. De waarde voor "Student's" t bedroeg $t = 14,410$. De probabiliteitstest volgens tabel FISHER gaf het resultaat $P < 0,001$ voor $n = 1098$ aantal vrijheidsgraden. Het aantal cellen bij verblijf in zeewater tegenover dat in zoet water is dus werkelijk verschillend.

Het aantal Keys-Willmercellen voor de dieren van de gehele reeks dwergzalmen werd in een grafiek uitgezet tegenover het verblijf in zeewater; zoook de Na-concentratie (omgerekend in NaCl ‰) in het bloedplasma van de proefdieren (Prof. KOCH, niet-gepubliceerde resultaten).

De krommen èn voor de Na-concentratie èn voor het aantal Keys-Willmercellen kennen een verloop dat sterk overeenkomt met dat voor de experimenten juni 1962 en april 1961 waarbij er correlatie was tussen zoutregeling en ontwikkeling van de Keys-Willmercellen.

Al beantwoord de "Blege"-dwergzalm niet aan het tijds patroon van de andere populaties van de soort *Salmo salar* L. toch kan ook hier worden besloten tot de correlatie tussen de zoutregeling en de ontwikkeling van de Keys-Willmercellen.

DISCUSSIE VAN PERSOONLIJKE RESULTATEN

Het onderzoek van de Keys-Willmercellen - zoals blijkt uit de literatuurgegevens - werd tot nu toe louter kwalitatief doorgevoerd.

In dit werk hebben wij getracht het probleem vooral kwantitatief te benaderen. Daartoe werden de Keys-Willmercellen geteld bij de paling en geteld en gemeten bij de zalm. De aantallen en metingen werden in correlatie gebracht met de saliniteit van het uitwendig milieu en de Na-concentratie in het bloedplasma van de proefdieren.

In die zin werd het kwetsuurexperiment doorgevoerd bij *Anguilla anguilla* L. waarbij de Keys-Willmercellen werden geteld. Tijdens de adaptatie aan zeewater vertoonden de gewonde dieren een opvallende toename in aantal Keys-Willmercellen (deel II, hfst. 5). De zoutconcentratie in het bloedplasma van de gewonde dieren kwam nagenoeg overeen met die van de controle-dieren. Ten gevolge van de aangebrachte huidwonde had voorzeker een niet geringe deshydratatie plaats. Indien, zoals men moet aannemen, deze werd gecompenseerd door het drinken van zeewater (SMITH 1930) in grotere hoeveelheid dan normaal, dan werd ook verhoogde zoutsecretie noodzakelijk. Er blijkt nu juist een correlatie te bestaan tussen de belangrijke toename in aantal van de Keys-Willmercellen bij de gele paling en de intensiteit van de werking van zijn zoutregelend vermogen, tijdens de adaptatie aan zeewater.

Tijdens de adaptatie aan zoet water was het aantal Keys-Willmercellen gedaald, minder bij de gewonde dieren dan bij de controle-dieren. Het verschil kan dan ook hier geïnterpreteerd worden als een argument ten voordele van hun rechtstreekse tussenkomst in de meer intense minerale regulatie vereist in geval van kwetsuur.

Bij *Salmo salar* L. werden de Keys-Willmercellen geteld en tevens gemeten (deel II, hfst. 6). Op het tijdstip van de zeewaartse migratie zijn de Keys-Willmercellen bij de smolt goed ontwikkeld en in

groot aantal aanwezig, dit in vergelijking met diezelfde cellen bij de parr. Bij het experimenteel overbrengen vanuit zoet water naar zeewater namen de Keys-Willmercellen nog toe in aantal en in grootte. Daar KOCH, EVANS en BERGSTRÖM (1959) vaststellen dat het regulatievermogen bij de zalm volkomen tot ontwikkeling komt in zoet water, zonder voorafgaand contact met zeewater, kan de verhoging van het aantal van de Keys-Willmercellen ook hier beschouwd worden als een belangrijk argument ten voordele van hun bijdrage tot de zoutregulatie. Het toenemen van deze cellen in aantal en in grootte bij het overbrengen in zeewater, zou dan overeenkomen met een intens in werking stellen van een mechanisme dat potentieel aanwezig was vóór het contact met zeewater, evenals de longen van een kikkervors als structuur ontwikkelen bij de donderpad vooraleer de jonge kikkervors in de lucht komt leven.

Bij de jonge Atlantische zalm is het regulatievermogen uitgesproken in de lente en afwezig in de winter. (KOCH, EVANS en BERGSTRÖM 1959, KOCH en EVANS 1962, KOCH 1962). Bij het overbrengen vanuit zoet water in vol zeewater tijdens de winter, waarbij de proefdieren afsterven, blijft ook de toename in aantal voor de Keys-Willmercellen uit.

Gezien de Keys-Willmercellen toenemen in grootte en in aantal bij het overplaatsen in zeewater op het tijdstip der migratie (lente) en gezien het uitblijven van dit toenemen na dit tijdstip, blijkt er dus c o r r e l a t i e te bestaan t u s s e n d e o n t w i k k e l i n g v a n d e K e y s - W i l l m e r c e l l e n e n h e t z o u t r e g e l e n d v e r m o g e n v a n d e A t l a n t i s c h e z a l m .

Zoals het werd aangetoond (deel II, hfst. 5) blijven glasaaltjes en gele palingen bekwaam tot snelle omschakeling van hypertonische regulatie in zoet water naar hypotonische regulatie in zeewater en omgekeerd, waarbij de wijzigingen in de Keys-Willmercellen samengaan met de verandering in zoutregeling. Ook de dwergzalm "Blege", een relictzalm, bleek tijdens de winter bekwaam tot snelle omschakeling van hypertonische regulatie in zoet water naar hypotonische regulatie in zeewater. In die zin zijn, voor de onderzochte ontwikkelingsfasen, de Europese paling en de dwergzalm meer euryhalien dan de Atlantische zalm, wat natuurlijk niet uitsluit

dat voor de beide migrerende vissen, paling en zalm, en ook voor de relictzalm de Keys-Willmercellen eenzelfde secernerende functie zouden vervullen.

Voor deze functie stelt zich het alternatief van een endocriene of van een exocriene secretie.

De auteurs die voor de Keys-Willmercellen een endocriene functie voorstellen, zien deze niet altijd in verband met de zoutregeling. LEINER (1938) en MAETZ (1953) stellen produktie voor van koolzuuranhydrase ter bevordering van de gaswisseling. Volgens KRYZANOVSKI (1934), PARRY e.a. (1959), PARRY en HOLLIDAY (1960) zouden de Keys-Willmercellen een hormoon produceren in verband met chromatoforen-expansie in de huid.

BEVELANDER (1935, 1936) staat een exocriene secretie voor, niet van zout, maar van mucus. Mucuscellen zijn echter te onderscheiden van Keys-Willmercellen. (Deel II, hfst. 4).

Uitzicht en ontwikkeling van de Keys-Willmercellen verwijzen eerder naar een exocriene secretie in verband met zoutregulatie.

Bij *Anguilla anguilla* L., zowel bij glasaaltjes als bij gele palingen (deel II, hfst. 3, 5), verschillen de Keys-Willmercellen in structuur naargelang het zoutgehalte van het uitwendig milieu. Cellen met "zoetwatervorm" - een dense en een lichte vorm - konden onderscheiden worden van de "zoutwatervorm".

Bij *Salmo salar* L. werden diezelfde vormen aangetroffen (deel II, hfst. 6). Ook wijzen structuur en grootte van de Keys-Willmercellen op een cyclische ontwikkeling van deze cellen. Als fasen van die ontwikkeling kunnen aangezien worden - ook THREADGOLD en HOUSTON (1964) zagen het zo - de opeenvolgende vormen van deze cellen die in deel II, hfst. 3 en 6 werden beschreven; de dense vormen bij de parr en bij de smolt vóór het contact met zeewater, de grote actieve vormen bij verblijf in zeewater, de lichte vormen die vooral voorkomen bij verblijf in zoet water.

De structuur van de Keys-Willmercellen gedurende deze cyclische ontwikkeling kan opgevat worden als een bevestiging van het secretorisch karakter van de Keys-Willmercellen; de apicale groeve en de verbinding die deze cellen verwezenlijken tussen de bloedbaan en het uitwendig

milieu, kunnen een aanwijzing zijn voor een *exocrine secretie*. De lichte vorm - zeer kenmerkend voor de zoetwatersalmonide *Huchohuch* L. (deel II, hfst. 3) - zou kunnen vertegenwoordigen een stadium van uitgevallen, verminderde of veranderde activiteit.

Samenvattend kunnen wij dus zeggen dat uit het histologisch onderzoek van de kieuwen gebleken is dat de *Keys-Willmercellen* bij *Anguilla anguilla* L. en bij *Salmo salar* L. veranderen in structuur, in grootte en in aantal op de onderscheiden ontwikkelingsstadia van deze migrerende soorten, wanneer de dieren - in hun natuurlijk milieu of in proefondervindelijke omstandigheden - aan water met zeer uiteenlopend zoutgehalte werden blootgesteld.

Wij menen dus te mogen besluiten dat zowel onze kwantitatieve als kwalitatieve uitslagen bijdragen tot de staving van de hypothese oorspronkelijk vooropgesteld door A. KEYS en E.N. WILLMER, nl. dat de grote acidofiele cellen die voorkomen in de kieuwen van de beenvissen een secretinerende rol vervullen bij de zoutregulatie in het plasma van deze vissen.

SAMENVATTING

In 1932 beschreven A. KEYS en E.N. WILLMER bijzondere acidofiele cellen in de kieuwen van *Anguilla anguilla* L. en stelden de hypothese voorop dat deze cellen verantwoordelijk konden zijn voor de chloridesecretie in de kieuwen van paling en van andere beenvissen : deze cellen staan thans algemeen als Keys-Willmercellen bekend.

In deze verhandeling wordt vooraf getracht een kritisch overzicht te geven van de wetenschappelijke literatuur betreffende het gestelde onderwerp.

Vele auteurs bestudeerden de structuur en opperden zienswijzen betreffende de mogelijke functie van de Keys-Willmercellen.

G. BEVELANDER (1935) dacht dat de Keys-Willmercellen mucuscellen zouden zijn in een bepaald stadium van hun activiteit.

Door het histochemisch onderzoek tracht D.E. COPELAND (1947a, 1948, 1950) de chloride-secretie aan te tonen bij de estuariumvis *Fundulus heteroclitus* ; O. PETTENGILL (1947), O. PETTENGILL en D.E. COPELAND (1948) lokaliseren enzymatische activiteit rond een apicale excretievacuool. H.G. GETMAN (1950) ziet in de apicale groeve bij *Anguilla rostrata* L. verblijvend in zeewater, een aanwijzing voor chloride-excretie. Op deze cellen bij *Anguilla anguilla* L. past G. COLOMBO (1960, 1961) opnieuw een chloride-test toe op gele paling en op zilverpaling ; de zoutregeling meent hij te kunnen toeschrijven aan de Keys-Willmercellen.

Het onderzoek met de elektronenmicroscop (GETMAN 1950, DOYLE en GORECKI 1961, KESSEL en BEAMS 1962, HOLLIDAY en PARRY 1962, PHILPOTT en COPELAND 1963, STRAUSS 1963, THREADGOLD en HOUSTON 1961, 1964, PHILPOTT 1965) doet de Keys-Willmercellen kennen als hoog-gespecialiseerd en verschillend van de epitheelcellen en van de mucuscellen. De interpretaties van de ultrastructuur na experimenteel overplaatsen vanuit zoet water in zeewater, zijn echter sterk uiteenlopend. Spreken sommige auteurs van een chloride-excretie, andere schrijven aan de Keys-Willmercellen een endocriene functie toe.

De Keys-Willmercellen werden ook bestudeerd uitgaande van hun gelijkenis met de pseudobranchiale cellen, dit o.a. door M. LEINER (1938) en G. PARRY, F.G.T. HOLLIDAY en J.H. BLAXTER (1959, 1960).

Inderdaad bezitten kieuw en nevenkieuw acidofiele cellen die onderling enige gelijkenis vertonen. Dit werd in feite voor het eerst waargenomen door F. GRANEL (1927). De identiciteit van deze cellen werd echter zelfs tot nu toe niet voldoende aangetoond (R. MORRIS 1960), zodat men uit de functie van de pseudobranchiale cellen bezwaarlijk die der Keys-Willmercellen kan afleiden.

Zeer recent werden structuren met experimenteel bewezen chloride-secrernerende functie vergeleekend ter studie genomen : de zoutklieren van mariene vogels en -reptielen door K. SCHMIDT-NIELSEN (1959); de rectale klier bij de kraakbeenvissen door J.W. BURGER en W.N. HESS (1960a,b) J.W. BURGER (1962, 1965). Sommigen der bovengenoemde auteurs hebben getracht door analogie met het actief ionentransport van deze structuren de aard van de secretie der Keys-Willmercellen te achterhalen.

Als achtergrond van ons eigen onderzoek, waarbij gebruik gemaakt wordt van de uitgesproken maar wisselende minerale regelingscapaciteit van migrerende vissen, wordt de literatuur (b.v. KOCH en HEUTS 1943, KOCH 1949, H. KOCH, J. EVANS en E. BERGSTRÖM 1959, enz.) aangaande dit onderwerp vrij uitgebreid behandeld.

Anguilla anguilla L. vormt het uitgangspunt van ons persoonlijk onderzoek : *Gelapalingen* uit zeewater en uit zoet water, en ook *glasaaltsjes*.

Voor het onderzoek op *Salmo salar* L. hadden wij gefixeerde zalmen ter beschikking die, bij praktisch constante temperatuur, overgebracht werden vanuit zoet water naar vol zeewater (KOCH en EVANS 1962), verder ook zalmen uit de vrije natuur.

Ter vergelijking met de migrerende soorten werd gewerkt op de Donauzalm *Hucho hucho* L. en op de zeepaling *Conger conger* L.

De *kieuwen* werden bestudeerd bij meer dan 300 exemplaren van de genoemde species; van *Salmo salar* L. en van *Hucho hucho* L. werd ook de *pseudobranchie* on-

derzocht. In totaal werden een 5000-tal micropreparaten gemaakt met daarop ruim 100.000 sneden. De sneden werden selectief gekleurd en onderzocht met de licht- en de fasencontrastmicroscop.

De Keys-Willmercellen werden gedifferentieerd, enerzijds van de muscellen door selectieve kleurtesten, anderzijds van de pseudobranchiale cellen door het verschil in ligging tegenover de bloedbaan en tegenover het uitwendig milieu (deel II, hfst. 4).

Aantal, structuur, ligging en grootte van de Keys-Willmercellen werden ter studie genomen.

Betreffende de s t r u c t u u r werden de Keys-Willmercellen van gele paling uit een natuurlijk marien milieu vergeleken met die van de zoetwatersalmonide, H u c h o h u c h o L. (deel II, hfst.3).

Voor S a l m o s a l a r L. werden voor de Keys-Willmercellen de vormen beschreven die voorkomen in de verschillende ontwikkelingsstadia van deze migrerende soort (deel II, hfst. 6).

Naast de z o e t w a t e r v o r m werd voor de Keys-Willmercellen de z o u t w a t e r v o r m onderscheiden.

Bij de gele paling werd in de actieve zoutwatervorm van de Keys-Willmercellen een a p i c a l e g r o e v e waargenomen. Voor andere species werden in de literatuur analoge structuren vermeld, uitsluitend in studies met de elektronenmicroscop (deel I, hfst. 1). Voor S a l m o s a l a r L. uit zeewater werd de apicale groeve ook alleen met de elektronenmicroscop waargenomen door THREADGOLD en HOUSTON (1964).

Ook bij paling uit zoet water werd door ons sporadisch een apicale groeve waargenomen; bij de zalm uit zoet water werd er geen waargenomen; ook niet bij H u c h o h u c h o L.

Experimenteel werden op verschillende tijdstippen van het jaar gele palingen en glasaaltjes overgeplaatst vanuit zoet water naar zeewater en/of omgekeerd (deel II, hfst. 5). Door dosering van het bloedplasma op het Na-gehalte werd bij de gele paling de minerale regulatie gecontroleerd (tabellen p. 74 en 75).

In het k w e t s u u r e x p e r i m e n t bij de gele paling werd door het aanbrengen van een huidwonde en de daarop-

volgende adaptatie aan zeewater, respectievelijk aan leidingswater, de minerale regulatie intens in werking gesteld. Bij de palingen van het kwetsuurexperiment werden de Keys-Willmercellen geteld (tabellen p. 78 en 79). Na adaptatie aan zeewater vertoonden de gewonde dieren een opvallende toename in aantal Keys-Willmercellen. De gemiddelde waarde van het aantal cellen per lamellenbasis nam toe van 3,12 tot 4,79 met een standaarddeviatie respectievelijk $s = 1,007$ en $s = 1,287$. De toepassing van de t-test volgens "Student" geeft een probabiliteit van $P < 0,001$ voor de mogelijkheid dat het waargenomen verschil aan toeval zou te wijten zijn. Tijdens de adaptatie aan leidingswater daalde het aantal Keys-Willmercellen minder sterk bij de gewonde dieren dan bij de controle-dieren (plaat XII). De gemiddelde waarde van het aantal cellen per lamellenbasis bedroeg bij de gewonde dieren 2,52 tegenover 1,79 bij de controle-dieren: De standaarddeviatie is respectievelijk $s = 0,944$ en $s = 0,860$. Ook hier was de probabiliteit $P < 0,001$.

Voor *Salmo salar* L. werden de Keys-Willmercellen geteld en teven ook gemeten, voor individuen in de verschillende ontwikkelingsstadia. Voor de *smolt*s gebeurde dit vooreerst voor kweekzalmen die in standaardvoorwaarden, experimenteel uit zoet water naar vol zeewater werden overgebracht. Het tijdstip van het jaar (lente tegenover winter) en de duur van het verblijf in zeewater (van 20 u 37 tot 219 u 00) lieten vergelijking toe met de controle-dieren en ook onderling en voor de grootte van de Keys-Willmercellen en voor het aantal daarvan (plaat XIV, XV).

Bij de *smolt* op het tijdstip van de migratie (lente) waren de Keys-Willmercellen goed ontwikkeld en in groot aantal aanwezig; het gemiddeld aantal per lamellenbasis was 3,70 ($s = 1,191$). Bij het overbrengen van de dieren uit zoet water naar zeewater (3°8 C) nam dit gemiddeld aantal toe tot 4,69 ($s = 1,319$) na een verblijf van 68 u 30 tot 121 u 28; tot 5,36 ($s = 1,375$) na een verblijf van 219 u 00. De toepassing van de t-test volgens "Student" geeft voor dit lente-experiment in beide gevallen een probabiliteit van $P < 0,001$, wat wijst op een zeer geringe waarschijnlijkheid dat het waargenomen verschil in aantal cellen aan het toeval zou toe te schrijven zijn. Bij de *smolt* uit de-

zelfde populatie - maar weerhouden in zoet water - was in de winter daaropvolgend het aantal cellen gedaald. Bij een overplaatsen vanuit zoet water naar zeewater bleef een toename in aantal praktisch uit.

Het gemiddeld aantal Keys-Willmercellen in zoet water was 2,66 ($s = 0,987$); na een verblijf in zeewater (71 u 35 tot 117 u 15) 2,76 ($s = 0,939$). In dit winter-experiment is de probabiliteit $0,1 < P < 0,2$, wat er op wijst dat het verschil inderdaad een geringe kans heeft om betekenisvol te zijn.

Bij de jonge Atlantische zalm is het regulatievermogen uitgesproken in de lente en afwezig in de winter (KOCH, EVANS en BERGSTRÖM 1959, KOCH en EVANS 1962, KOCH 1962). Bij een verblijf in zeewater, tijdens de winter, langer dan 117 u 15, gingen ook alle vissen dood.

Voor de smolts werden de Keys-Willmercellen geteld en gemeten bij een tweede reeks nl. wilde actief-migrerende zalmen die in de vroege lente in standaardvoorwaarden, experimenteel uit zoet water naar vol zeewater werden overgebracht. De duur van het verblijf in zeewater (van 23 u 29 tot 244 u 40) liet vergelijking toe met de controle-dieren. Bij deze actief-migrerende zalmen waren de Keys-Willmercellen goed ontwikkeld en in groot aantal aanwezig; het gemiddeld aantal per lamellenbasis was 3,89 ($s = 1,227$). Bij het overbrengen van de dieren uit zoet water naar zeewater (5°C) nam dit gemiddeld aantal toe tot 4,63 ($s = 1,288$) na een verblijf van 82 u 55 tot 99 u 55; tot 5,42 ($s = 1,482$) na een verblijf van 244 u 00 en 244 u 40. De toepassing van de t-test volgens "Student" geeft in beide gevallen een probabiliteit van $P < 0,001$, wat wijst op een grote waarschijnlijkheid dat het waargenomen verschil in aantal cellen betekenisvol is.

Ook bij de p a r r werdende Keys-Willmercellen geteld en gemeten en dit in vergelijking met smolt uit zoet water. De Keys-Willmercellen bij de parr zijn klein, maar goed gevormd. Het aantal Keys-Willmercellen neemt toe van $\bar{X} = 1,20$ in de eerste zomer tot $\bar{X} = 2,48$ na de tweede zomer. De kleinere afmetingen van de Keys-Willmercellen en het geringe aantal bij de parr tegenover de sterke toename van de cellen in grootte en in aantal bij de smolt in de lente van het 3e jaar en de afname na dit tijdstip, samen met de structuurverandering in de beschouwde fase, kunnen

een aanwijzing zijn voor de cyclische ontwikkeling van de Keys-Willmercellen.

Bij de a d u l t e z a l m e n waren de resultaten van het tellen der Keys-Willmercellen uiteenlopend. Bij de K e l t was het gemiddeld aantal $\bar{X} = 2,43$. Voor zalmen uit de zee die stroomopwaarts migreren was het gemiddeld aantal in de onderscheiden reeksen $\bar{X} = 4,95$, $\bar{X} = 4,87$, $\bar{X} = 4,98$. Bij zalmen die in zeewater verbleven gedurende 3 md en 2 tot 3 jaar was het gemiddeld aantal cellen respectievelijk $\bar{X} = 5,11$ en $\bar{X} = 5,51$. Ook deze resultaten kunnen een aanwijzing zijn voor de cyclische ontwikkeling van de Keys-Willmercellen.

De dwergzalmen "B l e g e" vormden de laatste reeks zalmen waarvan de Keys-Willmercellen werden geteld en gemeten. Tijdens de winter - en dit in tegenstelling met gewone zalmen - verdroegen deze zoetwaterrelictzalmen het experimenteel overbrengen uit zoet water naar vol zeewater. Bij de controle-dieren uit zoet water waren de Keys-Willmercellen kleiner dan bij de migrerende zalmen maar goed ontwikkeld; het gemiddeld aantal was $\bar{X} = 3,36$ ($s = 1,179$). Na verblijf in zeewater gedurende 71 u 40 tot 96 u 20 nam dit gemiddelde toe tot $\bar{X} = 4,50$ ($S = 1,405$); na 217 u 05 tot $\bar{X} = 4,78$ ($s = 1,483$). In beide gevallen was de probabiliteit $P < 0,001$, wat wijst op een geringe waarschijnlijkheid dat het waargenomen verschil aan het toeval toe te schrijven is.

De uitslagen van het kwantitatief en van het kwalitatief onderzoek werden besproken. Er blijkt èn bij de paling èn bij de zalm correlatie te bestaan tussen de toename in aantal van de Keys-Willmercellen en de intensiteit van de werking van het minerale regulatiesysteem. Wijzigingen in de Keys-Willmercellen, samengaand met een verandering in saliniteit van het uitwendig milieu, duiden op een exocriene, eerder dan op een endocriene functie. Zo denken we te mogen besluiten dat onze resultaten bijdragen tot het bevestigen van wat KEYS en WILLMER (1932) als hypothese vooropstelden : dat de acidofiele cellen in de kieuwen van de beenvissen een secernerende rol vervullen in de minerale regulatie bij deze vissen.

BIBLIOGRAFIE

ALLEN K. R.

- 1941 - Studies on the biology of the early stages of the salmon (*Salmo salar*). *J. Animal. Ecol.*, X, nr. 2, p. 273-295.
1944 - Studies on the biology of the early stages of the salmon (*Salmo salar*). *J. Animal. Ecol.*, XIII, nr. 1, p. 63-85.

ALM, G.

- 1934 - Salmon in the Baltic precincts. *Rapp. Cons. Explor. Mer*, XCII, p. 1-63.

BAGGERMAN B.

- 1960 - Salinity preference, thyroid activity and the seaward migration of four species of Pacific salmon. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, XVII, p. 296-322.

BAER J.

- 1958 - Anatomie comparée des vertébrés. Neuchâtel, p. 145-247.

BERG M.

- 1953 - A relict salmon, *Salmo salar* L., called "Småblank" from the river Namsen, Nord-Trøndelag. *Acta Borealia*, Tromsø, Norway, A, nr. 6, p. 3-17.

BERG L.S.

- 1932 - Uebersicht der Verbreitung der Süßwasserfische Europas. *Zoogeographica*, I, nr. 2, p. 119.

BERNARD Cl.

- 1865 - Introduction à l'étude de la médecine expérimentale. Paris.
1878 - Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux. Paris.

BERTIN L.

- 1935 - Migrations et métamorphoses de l'anguille d'Europe, Paris.
1951 - Les anguilles. Paris.
1958 - Organes de la respiration aquatique.
in GRASSE P. P., *Traité de zoologie*, Paris, dl. XIII, p. 1319-1326.

BEVELANDER G.

- 1935 - A comparative study of the branchial epithelium in fishes, with special reference to extrarenal excretion. *J. Morph.*, LVII, p. 335-348.
1936 - Branchial glands in fishes. *J. Morph.* LIX, p. 215-223.

BIJTEL J. H.

- 1947 - The mechanism of movement of the gill-filaments in Teleostei. *Experientia*, III, nr. 4, p. 158-165.
1949 - The structure and the mechanism of movement of the gill-filaments in Teleostei. *Arch. neerl. zool.*, VIII, nr. 3, p. 267-288.

BLACK V. S.

- 1948 - Changes in density, weight, etc. in *Fundulus heteroclitus* in fresh water and sea water. *Biol. Bull.*, XCV, p. 83-93.
1951a - Changes in body chloride, density and water content of Chum (*Oncorhynchus keta*) and Coho (*O. kisutch*) salmon fry when transferred from fresh water to sea water. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, VIII, nr. 3, p. 164-177.
1951b - Osmotic regulation in teleost fishes in HOAR W.S., BLACK V.S. & BLACK E.C. Some aspects of the physiology of fish. 3 dln, Publ. Ontario Fish. Res. Lab., LXXI, dl. II, p. 53-89.

BOTTAZI

- 1908 - Osmotischer Druck und elektrische Leitfähigkeit der Flüssigkeiten der einzelligen pflanzlichen und tierischen Organismen. *Ergebn. Physiol.*, VII, p. 101-402.

BOUCHER-FIRLY S.

- 1935 - Recherches biochimiques sur les Téléostéens Apodes. *Thèses Fac. Sc. Paris, Ser. A/1543*, 106 pp.

BROUSSONET P. M. A.

- 1782 - *Ichthyologia*. London.
1785 - Mémoire pour servir à l'histoire de la respiration des poissons. *Mém. Acad. Sci. Paris*.

BRUUN A. F.

- 1963 - The breeding of the North Atlantic freshwater-eels ; in RUSSELL F. S., *Advances in Marine Biology*, London and New York, I, p. 127-169.

BÜLBRING E., BURN J.H. & SHELLEY H.J.

- 1953 - Acetylcholine and ciliary movement in the gill plates of *Mytilus edulis*. *Proc. Roy. Soc. B*, CXXI, p. 445-466.

BURDEN C.E.

- 1956 - The failure of hypophysectomised *Fundulus heteroclitus* to survive in fresh water. *Biol. Bull. CX*, p. 8-28.

BULGER R. E.

- 1963 - Fine structure of the rectal (salt-secreting) gland of the spiny dogfish, *Squalus acanthias*. *Anat. Rec.*, CXLVII, nr. 1, p. 95-127.

BURGER J.W. & HESS W.N.

- 1960a - On the function of the rectal gland in the spiny dogfish, *Squalus acanthias*. *Anat. Rec.*, CXXXVI, p. 173.
1960b - Function of the rectal gland in the spiny dogfish. *Science*, CXXXI, nr. 3401, p. 670-671.

BURGER J.W.

- 1962 - Further studies on the function of the rectal gland in the spiny dogfish. *Physiol. Zool.*, XXXV, nr. 3, p. 205-217.
1965 - Roles of the rectal gland and the kidneys in salt and water excretion in the spiny dogfish. *Physiol. Zool.*, XXXVIII, nr. 3, p. 191-196.

BURGER J.W. & TOSTESON D.C.

- 1966 - Sodium influx and efflux in the spiny dogfish *Squalus acanthias*. *Comp. Biochem. Physiol.* XIX, nr. 4, p. 649-654.

BUTLER D.G.

- 1966 - Effect of hypophysectomy on osmoregulation in the European eel (*Anguilla anguilla* L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, XVIII, nr. 4, p. 773-782.

CHAN D.K.O. & PHILLIPS J.G.

- 1966 - The embryology of the rectal gland of the spiny dogfish *Squalus acanthias* L. *J. Anat.*, C, nr. 4, p. 899-904.
1967 - The anatomy, histology and histochemistry of the rectal gland in the lip-shark *Hemiscyllium pliosum* (Bennett). *J. Anat.*, CI, nr. 1, p. 137-157.

COLOMBO G.

- 1960 - Recerche istochimiche sulla funzione osmo-regolatrice delle branchie nelle anguilla Europee, *Anguilla anguilla*. *Arch. Ocean. Limn.*, XII, nr. 2, p. 117-130.
1961 - Chloride-secreting cells in the gills of European eels. *Nature*, London, CXC, nr. 4770, p. 101.

CONTE F.P. & WAGNER H.H.

- 1965 - Development of osmotic and ionic regulation in juvenile steelhead trout *Salmo gairdneri*. *Comp. Biochem. Physiol.*, XIV, nr. 4, p. 603-620.

COPELAND D.E.

- 1947a- The cytological basis of salt excretion from the gills of *Fundulus heteroclitus*, Biol. Bull., XCIII, p. 192.
- 1947b- Interrelation of Cl^- -secreting cell (gill) and the pseudobranch of *Fundulus heteroclitus*. Biol. Bull., XCIII, p. 222.
- 1948 - The cytological basis of chloride transfer in the gills of *Fundulus heteroclitus*. J. Morph., LXXXII, p. 201-227.
- 1950 - Adaptive behaviour of the chloride cell in the gill of *Fundulus heteroclitus*. J. Morph., LXXXVII, p. 369-380.

COPELAND D.E. & DALTON A.J.

- 1959 - An association between the mitochondria and the endoplasmic reticulum in the cells of the pseudobranch gland of the teleost. J. Biophys. and Biochem. Cytol., V, nr. 3, p. 393-396.

CREUTZBERG F.

- 1961 - On the orientation of migrating elvers (*Anguilla vulgaris* Turt.) in a tidal area. Netherl. J. Sea Res., I-III, p. 257-338.

CURTIS B.

- 1956 - Het leven der vissen (uit het Engels vertaald door ENGEL H. & HILLENUS D.). Den Haag.

DAHL K.

- 1927 - The "blege" or dwarf-salmon. A landlocked salmon from lake Bygglandsfjord. Skr. Norske vidensk. Acad., I, nr. 9, p. 2-29.

D'ANCONA U.

- 1959 - Old and new solutions to the Eel problem. Nature, Lond., CLXXXIII, nr. 4672, p. 405.
- 1960 - The life-cycle of the Atlantic eel. Symp. Zool. Soc. Lond., I, p. 61-75.

DEELDER C.L.

- 1960 - The Atlantic eel problem. Nature, Lond., CLXXXV, p. 589-591.

DEFRISE A.

- 1934 - Ricerche di citofisiologia renale. Arch. ital. Anat. Embriol., XXXIII, p. 692-717.

DOYLE W.L.

- 1960 - Fine structure of salt-regulating epithelia. Anat. Rec., CXXXVI, p. 184.

DOYLE W.L. & GORECKI D.

- 1961 - The so-called chloride cell of the fish gill. Physiol. Zool., XXXIV, nr. 2, p. 81-85.

DOYLE W.L.

- 1962 - Secretory cells of the rectal salt-gland of an elasmobranch, *Urolophus*. Anat. Rec., CXLII, p. 28.

DUNSON W.A. & WEYMOUTH R.D.

- 1965 - Active uptake of sodium by softshell turtles (*Trionyx spinifer*). Science, CIL, nr. 3679, p. 67-63.

DUVAL M.

- 1925 - Recherches physico-chimiques et physiologiques sur le milieu intérieur des animaux aquatiques. Ann. Inst. Océan., Paris, II, nr. 3, p. 233-407.

ENAMI M.

- 1959 - The morphology and functional significance of the caudal neurosecretory system of fishes in "Comparative Endocrinology" A. GORBMAN, ed., London & New York, p. 597-724.

FÄNGE R. & FUGELLI K.

- 1962 - Osmoregulation in Chimaeroid fishes. Nature, Lond., CXCVI, nr. 4855, p. 689.
- 1963 - The rectal salt gland of Elasmobranchs, and osmoregulation in Chimaeroid fishes. Sarsia, X, p. 27-34.

FESSARD A. & POSTERNAK J.

1950 - Les mécanismes élémentaires de la transmission synaptique. *J. Physiol.*, XLII, p. 319-445.

FLEMING W.R. & KAMEMOTO F.I.

1963 - The site of sodium outflux from the gill of *Fundulus kansae*. *Comp. Biochem. Physiol.*, VIII, p. 263-269.

FONTAINE M. & CALLAMAND O.

1941 - Sur certains facteurs des migrations de l'anguille. *Bull. Soc. Zool., Fr.*, LXVI, p. 68-76.

1943 - Les aspects physiologiques d'une "vie cyclique de l'anguille d'Europe" (*Anguilla anguilla* L.). *Bull. Mus. Hist. Nat., Paris*, XV, nr. 5, p. 373-378.

FONTAINE M.

1943 - Des facteurs physiologiques déterminant les migrations reproductrices des Cyclostomes et poissons potamotiques. *Bull. Inst. Océan., Monaco*, XI, nr. 848, p. 1-8.

FONTAINE M. & OLIVEREAU M.

1947 - La glande thyroïde du saumon atlantique (*Salmo salar* L.) $\frac{0}{+}$ au cours de sa vie en eau douce. *C.R. Acad. Sci. Paris*, CCXXIV, p. 1660-1662.

FONTAINE M. & CALLAMAND O.

1948 - Nouvelles recherches sur le déterminisme physiologique de l'avalaison des poissons migrateurs amphibiotiques. *Bull. Mus. Hist. nat., Paris*, XX, nr. 3, p. 317-320.

FONTAINE M.

1948 - Du rôle joué par les facteurs internes dans certaines migrations de poissons. *J. Cons. Int. Explor. Mer*, XV, nr. 3, p. 284-294.

FONTAINE M., LELOUP J. & OLIVEREAU M.

1952 - La fonction thyroïdienne du jeune saumon, *Salmo salar* L. (parr & smolt). et son intervention possible dans la migration d'avalaison. *Arch. Sc. Physiol.*, VI, p. 83-104.

FONTAINE M. & VIBERT R.

1952 - Migration fluviale anadrome du saumon (*Salmo salar* L.) et gradient de salinité. *Ann. St. Centr. Hydr. appl.*, IV, p. 339-345.

FONTAINE M. & FONTAINE Y.A.

1956 - Détermination du pouvoir thyrotrope de l'hypophyse et du milieu intérieur de téléostéens par mesure de la fixation de ^{131}I par la thyroïde de la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* Rich.). *J. Physiol.*, Paris, XXXXVIII, p. 881-892.

FONTAINE M. & LELOUP J.

1959 - Influence de la nage à contre-courant sur le métabolisme de l'iode et le fonctionnement thyroïdien chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* Rich.). *C.R. Acad. Sci. Paris*, CCIL, p. 343-347.

FONTAINE M.

1961 - L'anguille européenne succombe-t-elle sans se reproduire ? *C.R. Acad. Sci. Paris*, CCLII, p. 1258-1260.

FONTAINE M. & LELOUP J.

1962 - Le fonctionnement thyroïdien du saumon adulte (*Salmo salar* L.) à quelques étapes de son cycle migratoire. *Gen. Comp. Endocrin.*, II ; nr. 3, p. 317-322.

FONTAINE M.

1964 - Les mécanismes physiologiques du comportement migratoire amphibiotique catadrome des poissons téléostéens. *Verh. Int. Ver. Limnol. Stuttgart*, XV, p. 959-967.

FONTAINE Y.A. & CONDLIFFE P.G.

1963 - Purification de l'hormone thyrotrope d'un téléostéen (l'anguille). Parallèle entre la spécificité zoologique de cette hormone et quelques-uns de ses caractères physicochimiques. *Bull. Soc. Chim. Biol. Paris*, VL, nr. 7-8; p. 681-693.

FONTAINE M.

1964a - Corpuscules de Stannius et régulation ionique (Ca, K, Na) du milieu intérieur de l'anguille (*Anguilla anguilla* L.). C.R. Acad. Sci, Paris, CCLIX, nr. 4, p. 875-878.

FONTAINE M., BERTRAND E., LOPEZ E. & CALLAMAND O.

1964 - Sur la maturation des organes génitaux de l'anguille femelle (*Anguilla anguilla* L.) et l'émission spontanée des œufs en aquarium. C.R. Acad. Sci., Paris, CCLIX, nr. 12, p. 2907-2910.

FREDERICQ L.

1882 - Influence du milieu extérieur sur la concentration saline du sang chez quelques animaux aquatiques. Bull. Acad. Roy. Belg., 1882, nr. 4, p. 209.

FROST W.E.

1945 - The age and growth of eels (*Anguilla anguilla* L.) from the Windermere catchment area. J. Anim. Ecol., XIV, nr. 1, p. 26-36 ; nr. 2, p. 106-124.

GETMAN H.C.

1950 - Adaptive changes in the chloride cells of *Anguilla rostrata*. Biol. Bull., XC, p. 439-445.

GILSON G.

1908 - L'anguille, sa reproduction, ses migrations et son intérêt économique en Belgique. Ann. Soc. zool. Belg., XLIII, p. 7-58.

GINETSINSKII A.G., VASIL'EVA V.F., ZAKS M.G., NATOCHIN Y.V. & SOKOLOVA M.M.

1964 - Methods of study of osmoregulation systems in fish, in "Techniques for the investigation of fish physiology" PAVLOVSKII N. ed. Translation : Israël program for scientific translations, Jerusalem & Washington, p. 168-177.

GOMORI G.

1941 - Distribution of phosphatase in normal organs and tissues. J. Cell. Comp. Physiol., XVII, p. 71-83.

GORDON M.S.

1963 - Chloride exchanges in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) adapted to different salinities. Biol. Bull., CXXIV, nr. 1, p. 45-54.

GRANEL F.

1927 - La pseudobranchie des poissons. Arch. Anat. micr., XXIII, p. 175-317.

1960 - De la pseudobranchie des téléostéens. Bull. Ass. Anat., CV, p. 324-330.

GRASSI G.B.

1896 - The reproduction and metamorphosis of the common eel. Proc. Roy. Soc., Lond., LX, p. 260-271.

GRASSI G.B. & CALANDRUCCIO S.

1897 - New observations on the larva of the common eel. Nature, Lond., LVI, p. 85.

GRAY P.

1958 - Handbook of basic microtechnique, London.

GURR E.

1960 - Encyclopaedia of microscopic stains, London.

HALLY A.D.

1960 - The fine structure of cells concerned with secretion of water and ions : "Hydro-ionic" cells. Anat. Rec., CXXXVI, p. 205.

HEUTS M.J.

1942 - Chloride-excretion bij *Gasterosteus aculeatus* L. Ann. Soc. zool. Belg., LXXIII, nr. 1, p. 69-72.

HOAR W.S.

1939 - The weight-length relationship of the Atlantic salmon. J. Fish. Res. Bd. Can., IV, nr. 5, p. 441-460.

HOAR W.S. & BELL M.

- 1950 - The thyroid gland in relation to the seaward migration of Pacific salmon. *Can. J. Res.*, XXVIII, p. 126-136.

HOAR W.S.

- 1951 - The behavior of Chum, Pink and Coho salmon in relation to their seaward migration. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, VIII, nr. 4, p. 241-263.
1952 - Thyroid function in some anadromous and land-locked teleosts. *Trans. Roy. Soc. Can.*, XLVI, nr. 3, p. 39-53.

HOAR W.S., MACKINNON D. & REDLICH A.

- 1952 - Effects of some hormones on the behavior of salmon fry. *Can. J. Zool.*, XXX, p. 273-286.

HOAR W.S.

- 1953 - Control and timing of fish migration. *Biol. Rev.*, XXVIII, p. 437-452.

HOLLIDAY F.G.T. & PARRY G.

- 1962 - Electron-microscopic studies of the acidophil cells in the gills and pseudo-branches of fish. *Nature, Lond.*, CXCIII, p. 192.

HOUSE C.R.

- 1963 - Osmotic regulation in the brackish water teleost *Blennius pholis*. *J. Exp. Biol.*, XL, p. 87-104.

HOUSTON A.H.

- 1959 - Osmoregulatory adaptation of the steelhead trout (*Salmo gairdneri* Richardson) to sea water. *Can. J. Zool.*, XXXVII, p. 729-748.
1960 - Variations in the plasma-level of chloride in hatchery-reared yearling Atlantic salmon during part-smolt transformation and following transfer into seawater. *Nature, Lond.*, CLXXXV, p. 632-633.

HOUSTON A.H. & THREADGOLD L.T.

- 1963 - Body fluid regulation in smolting Atlantic salmon. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, XX, nr. 6, p. 1355-1369.

HUGHES G.M. & GRIMSTONE A.V.

- 1965 - The fine structure of the secondary lamellae of the gills of *Gadus pollachius*. *Quart. J. micr. Sci.*, CVI, nr. 4, p. 343-353.

HUGHES G.M.

- 1966 - The dimensions of fish gills in relation to their function. *J. Exp. Biol.*, VL, p. 177-195.

HUNTSMAN A.G. & HOAR W.S.

- 1939 - Resistance of Atlantic Salmon to sea water. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, IV, nr. 5, p. 409-411.

HUNTSMAN A.G.

- 1942 - Return of a marked salmon from a distant place. *Science*, VC, nr. 2467, p. 381-382.
1945a - Variable seaward migration of Salmon. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, VI, nr. 4, p. 311-325.
1945b - Migration of salmon parr. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, VI, nr. 5, p. 399-402.

IHLE J.E.W.

- 1947 - *Leerboek der vergelijkende ontleedkunde van de Vertebraten*. 2 dln. Utrecht, dl. II, p. 136-161.

IRO S.

- 1961 - The endoplasmic reticulum of gastric parietal cells. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, XI, p. 333-347.

JOLLIE M.

- 1962 - *Chordate Morphology*. New York, p. 286-289.

JONES C.I., HENDERSON I.W. & BUTLER D.G.

- 1965 - Water and electrolyte flux in the European eel (*Anguilla anguilla* L.). *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.*, LIV, nr. 1, p. 453-469.

JONES J.W.

1959a- The Salmon. London.

1959b- Eel migration. *Nature*, Lond., CLXXXIV, nr. 4695, p. 1281.

JORDAN H.J.

1951 - Het leven der dieren in het water. Utrecht, p. 12-26.

KAUP J.J.

1856 - Catalogue of Apodal Fish. London.

KESSEL R.G. & BEAMS H.W.

1962 - Electron microscope studies on the gill filaments of *Fundulus heteroclitus* from sea water and fresh water with special reference to the ultra structural organisation of the "Chloride cell". *J. Ultra-struct. Res.*, VI, nr. 1, p. 77-87.

KEYS A.B.

1931a- The heart-gill preparation of the Eel and its perfusion for the study of a natural membrane in situ. *Z. Vergl. Physiol.*, XV, nr. 2, p. 352-363.

1931b- Chloride and water secretion and absorption by the gills of the Eels. *Z. Vergl. Physiol.*, XV, nr. 2, p. 364-388.

1932 - The mechanism of adaptation to varying salinity in the Common Eel and the general problem of osmotic regulation in fishes. *Proc. Roy. Soc.*, B, CXII, p. 184-199.

KEYS A. & BATEMAN J.B.

1932 - Branchial response to adrenalin and to pitressin in the eel. *Biol. Bull.*, LXIII, nr. 2, p. 327-336.

KEYS A. & WILLMER E.N.

1932 - "Chloride secreting cells" in the gills of fishes, with special reference to the Common Eel. *J. Physiol.*, LXXVI, p. 368-378.

KIRSCHNER L.B.

1953 - Effect of cholinesterase inhibitors and atropine on active sodium transport across frog skin. *Nature*, Lond., CLXXII, p. 348-349.

KOCH H.J.

1934 - Essai d'interprétation de la soi-disant "réduction vitale" de sels d'argent par certains organes d'anthropodes. *Ann. Soc. Sci. méd. nat. Brux.*, B, LIV, p. 346-361.

KOCH H.J. & KROGH A.

1936 - La fonction des papilles anales des larves de Diptères. *Ann. Soc. Sci. Brux.*, LVI, p. 459-461.

KOCH H.J.

1938a- The absorption of chloride ions by the anal papilles of Diptera larvae. *J. Exp. Biol.*, XV, nr. 1, p. 152-160.

1938b- Régulation de la pression osmotique chez les animaux d'eau douce. *Ann. Soc., zool. Belg.*, LXIX, p. 235-241.

1942 - Cause physiologique possible des migrations des animaux aquatiques. *Ann. Soc. Zool. Belg.*, LXXIII, p. 37-62.

KOCH H.J. & HEUTS M.J.

1942 - Influence de l'hormone thyroïdienne sur la régulation osmotique chez *Gasterosteus aculeatus* L. forme *gymnurus* Cuv. *Ann. Soc. zool. Belg.*, LXXIII, p. 165-172.

KOCH H.J. & HEUTS M.J.

1943 - Régulation osmotique, cycle sexuel et migration de reproduction chez les Epinoches. *Arch. int. Physiol.*, LIII, nr. 3, p. 253-266.

KOCH H.J.

1949 - Quelques caractéristiques osmotiques de l'Anguille femelle jaune et argentée. *Arch. int. Physiol.*, LVII, nr. 2, p. 125-132.

KOCH H.J., EVANS J.C. & SCHICKS E.

1953 - Inhibition à l'aide de colorants basiques du transport actif de matières minérales par les branchies isolées du crabe *Eriocheir sinensis* (M.Edw.). Arch. int. Physiol., LXI, nr. 4, p. 476-484.

KOCH H.J.

1954a- Cholinesterase and active transport of sodium chloride through the isolated gills of the crab *Eriocheir sinensis* (M.Edw.). Proc. 7th Symp. Colston Res. Soc., VII, p. 15-27.

1954b- L'intervention de cholinestérases dans l'absorption et le transport actif de matières minérales par les branchies du crabe *Eriocheir sinensis* M. Edw. Arch. int. Physiol., LXII, nr. 1, p.136.

KOCH H.J., EVANS J.C. & BERGSTROM E.

1959 - Sodium regulation in the blood of Parr and Smolt stages of the Atlantic Salmon. Nature, Lond., CLXXXIV, nr. 4682, p. 283.

KOCH H.J.

1962 - Fysiologische aspecten van de trek bij de zalm, *Salmo salar* L. Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. Amsterdam, LXXI, nr. 8, p. 127-128.

KOCH H.J. & EVANS J.

1962 - La réversibilité du pouvoir d'adaptation osmotique du saumon (*Salmo salar* L.). Arch. int. Physiol., LXX, nr. 2, p. 319-320.

KOCH H.J.

1965 - Transcellular active transport of mineral ions by epithelial membranes of Arthropods. Arch. Biol., LXXVI, nr. 2-3-4, p. 175-187.

KOCH H.J.

Niet gepubliceerde resultaten.

KROGH A.

1937a- Osmotic regulation in the frog (*Rana esculenta*) by active absorption of chloride ions. Skand. Arch. Physiol., LXXVI, nr. 1-2, p. 60-74.

1937b- Osmotic regulation in fresh water fishes by active absorption of chloride ions. Z. Vergl. Physiol., XXIV, nr. 5, p. 656-666.

1938 - The active absorption of ions in some freshwater animals. Z. vergl. Physiol., XXV, nr. 3, p. 335-350.

1939 - Osmotic regulation in aquatic animals. Cambridge, Univ. Press.

KRYZANOVSKY S.G.

1934 - Die Pseudobranchie (Morphologie und biologische Bedeutung). Zool. Jb. (Anat.). LVIII, p.171-238.

KRIJGSMAN B.J.

1952 - Contractile and pacemaker mechanisms of the heart of arthropods. Biol. Rev., XXVII, p. 320.

LAGLER K.E., BARDACH J.E. & MILLER R.R.

1962 - Ichthyology, New York.

LANGERON M.

1949 - Précis de microscopie, Paris.

LEINER M.

1938 - Die Physiologie der Fischatmung. Leipzig.

LEINER M. & LEINER G.

1940 - Das Ferment Kohlensäureanhydratase im Tierkörper. Biol. Zbl., LX, p. 449-472.

LESCHKE E.

1914 - Volgens LISON L., "Histochimie et cytochimie animales". Principes et méthodes. Paris 1953, p. 193-194.

LISON L.

1936 - *Histochimie animale. Méthodes et Problèmes*. Paris.

1953 - *Histochimie et cytochimie animales. Principes et méthodes*. Paris.

LIU C.K.

1942 - Osmotic regulation and "Chloride secreting cells" in the paradise fish *Macropodus opercularis*. *Simensia*, XIII, p. 15-20.

1944 - Sodium Sulphate as an agent causing the development of the "Chloride-secreting cells" in *Macropodus*. *Nature*, Lond., CLIII, p. 252.

LUNDGAARD E.

1939 - Die saurelöslichen Phosphatverbindungen in der Darmschleimhaut bei Ruhe und während der Hexose-resorption. *Zeit. Physiol. Chem.*, CCLXI, p. 252.

McCLUNG J.R.

1961 - *McCLUNG's handbook of microscopical technique*, by thirty five authors. New York.

McINERNEY J.E.

1964 - Salinity preference : an orientation mechanism in salmon migration. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, XXI, nr. 5, p. 995-1018.

MAETZ J.

1953 - L'anhydrase carbonique dans deux Téléostéens voisins. Comparaison des activités anhydriques chez *Perca* et *Serranus*. *C.R. Soc. Biol. Paris*, CXLVII, p. 204-206.

1963 - Physiological aspects of neurohypophyseal function in fishes with some reference to the Amphibia. *Symp. Zool. Soc.*, Lond., nr. 9, p. 107-140.

MAETZ J., BOURGUET J. & LAHLOUH B.

1963 - Action de l'urohypophyse sur les échanges de sodium (étudiés à l'aide du ^{24}Na) et sur l'excrétion urinaire du téléostéen *Carassius auratus*. *J. Physiol.*, Paris, LV, nr. 2, p. 159-160.

1964 - Urophyse et osmorégulation chez *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, IV, nr. 4, p. 401-414.

MAETZ J. & MOREL F.

1965 - Mécanismes endocriniens communs de l'osmorégulation chez les vertébrés. *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.*, LIV, nr. 1, p. 515-530.

MAETZ J. & CAMPANINI G.

1966 - Potentiels transépithéliaux de la branchie d'anguille in vivo en eau douce et en eau de mer. *J. Physiol.*, LVIII, nr. 2, p. 248.

MAETZ J. & LAHLOUH B.

1966 - Les échanges de sodium et de chlore chez un élasmobranche, *Scyliorhinus*, mesurés à l'aide des isotopes ^{24}Na et ^{36}Cl . *J. Physiol.*, LVIII, nr. 2, p. 249.

MAETZ J., SAWYER W.H., PICKFORD G.E. & MAYER N.

1967 - Evolution de la balance minérale du sodium chez *Fundulus heteroclitus* au cours du transfert d'eau de mer en eau douce : Effets de l'hypophysectomie et de la prolactine. *Gén. Comp. Endocrinol.*, VIII, nr. 1, p. 163-176.

MALIKOVA E.M.

1959 - Biochemical analysis of young salmon at the time of their transformation to a condition close to the smolt stage, and during retention of smolts in fresh water. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, CCXXXII, p. 1-18.

MAURER F.

1884 - Ein Beitrag zur Kenntniss der Pseudobranchien der Knochenfischen. *Morph. Jb.* IX

MAYER N. & MAETZ J.

- 1967 - Axe hypophyso-interrénal et osmorégulation chez l'anguille en eau de mer. Etude de l'animal intact avec notes sur les perturbations de l'équilibre minéral produites par l'effet de "choc". C.R. Acad. Sci., Paris, Série D, CCLXII, p. 1632-1635.

MONDINI

- 1777 - De anguillae ovariis. Bologna.

MORONEY M.J.

- 1962 - Facts from figures. London.

MORRIS R.

- 1956 - The osmoregulatory ability of the lampern (*Lampetra fluviatilis*) in sea water during the course of its spawning migration. J. Exp. Biol., XXXIII, p. 235.
 1957 - Some aspects of the structure and cytology of the gills of *Lampetra fluviatilis*. Quart. J. Micr. Sci., XCVIII, nr. 4, p. 473-485.
 1958 - The mechanism of marine osmoregulation in the lampern (*Lampetra fluviatilis*) and the causes of its breakdown during the spawning migration. J. Exp. Biol., XXXV, p. 649-665.
 1960 - General problems of osmoregulation with special reference to cyclostomes. Symp. zool. Soc. Lond., 1960, nr. 1, p. 1-16.

MOTAIS R., ROMEU F. & MAETZ J.

- 1965 - Mécanisme de l'euryhalinité, C.R. Acad. Sci., Paris, CCLXI, nr. 3, p. 801-804.

MOTAIS R.

- 1967 - Les mécanismes d'échanges ioniques branchiaux chez les téléostéens. Leur rôle dans l'osmorégulation. Ann. Inst. Océan., XLV, nr. 1, p. 1-84.

MÜLLER F.W.

- 1897 - Ueber die Entwicklung und morphologische Bedeutung der Pseudobranchie und ihrer Umgebung bei *Lepidosteus osseus*. Arch. Mikr. Anat., XLIX.

NICHITA G.

- 1928 - La pseudobranchie de *Girardinus guppyi*. C.R. Acad. Sci., Paris, CLXXXVI, p. 1571-1575.

NICOL C.J.A.

- 1960 - The biology of marine animals. London.

PALADE G.E.

- 1953 - An electron microscope study of the mitochondrial structure. J. Histochem. Cytochem., I, nr. 4, p. 188-211.

PARRY G., HOLLIDAY F.G.T. & BLAXTER J.H.

- 1959 - "Chloride secretory cells" in the gills of Teleosts. Nature, Lond., CLXXXIII, p. 1248-1249.

PARRY G. & HOLLIDAY F.G.T.

- 1960 - An experimental analysis of the function of the pseudobranch in Teleosts. J. Exp. Biol., XXXVII, nr. 2, p. 344-354.

PARRY G.

- 1960 - The development of salinity tolerance in the salmon, *Salmo salar* L., and some related species. J. Exp. Biol., XXXVII, p. 425-434.
 1966 - Osmotic adaptations in fishes. Biol. Rev., XLI, p. 392-444.

PEARSE A.G.E.

- 1960 - Histochemistry theoretical and applied. London.

PEASE D.C.

- 1955 - Electron microscopy of the tubular cells of the kidney cortex. Anat. Rec., CXXI, p. 723-743.
 1956 - Infolded basal plasma membranes found in epithelia noted for their water transport. J. Biophys. Biochem. Cytol., nr. 2 (suppl.), p. 203-208.

PETTENGILL O.

1947 - Phosphatase activity in the chloride cells in the gill of *Fundulus heteroclitus*. Biol. Bull., XCIII, p. 224.

PETTENGILL O. & COPELAND D.E.

1948 - Alkaline phosphatase activity in chloride cell of *Fundulus heteroclitus*, and its relation to osmotic work. J. Exp. Zool., CVIII, p. 235-242.

PHILPOTT C.W. & COPELAND D.E.

1963 - Fine structure of chloride cells from three species of *Fundulus*. J. Cell. Biol., XVIII, nr. 2, p. 389-404.

PHILPOTT C.W.

1965 - Halide localisation in the teleost chloride cell and its identification by selected area electron diffraction. Protoplasma, LX, nr. 1, p. 7-23.

POLICARD A., BESSIS & LOCQUIN M.

1957 - Traité de microscopie, Instruments et techniques. Paris.

REDI F.

1684 - Degli animali viventi negli animali viventi, volgens BERTIN L., "Les anguilles", Paris, 1951, p.10-22.

RHODIN J.

1954 - Correlation of ultrastructural organisation and function in normal and experimentally changed proximal convoluted tubule cells of the mouse kidney, Doctoral thesis, Stockholm.

ROMEIS B.

1928 - Tierische Gewebe, in PETERFI T. "Allgemeine Morphologie", Berlin, p. 885-981

1948 - Mikroskopische Technik. München.

SCHÄPERCLAUS W.

1954 - Fisch-Krankheiten. Berlin, p. 163-166 ; 314-315 ; 323-327.

SCHLIEPER C.

1933 - Ueber die osmoregulatorische Funktion der Aalkiemer. Z. vergl. Physiol., XVIII, nr. 4, p. 682-695.

1955 - Körperflüssigkeit und Lebensraum der Tiere. Die Umschau, XXI, p. 653-655.

1958 - Ueber die Physiologie der Brackwassertiere. Verh. intern. Ver. Limnol., XIII, p. 710-717.

SCHMIDT J.

1909 - Ferskvandsaalenes (*Anguilla*) udbredning i verden. Acad. Roy. Sci. Danemark, VIII, nr. 3, p. 121-178.

1925a- On the distribution of the fresh water eels (*Anguilla*) throughout the world. Acad. Roy. Sci. Danemark, X, nr. 4, p. 329-382.

1925b- The breeding places of the eel. The Smithsonian report for 1924, p. 279-316.

SCHMIDT-NIELSEN K. & FANGE R.

1958 - Salt glands in marine reptiles. Nature, Lond. CLXXXII, p. 783-785.

SCHMIDT-NIELSEN K.

1959 - Salt glands. Sci. American, CC, nr. 1, p. 109-116.

SEDAR A.J. & FRIEDMAN M.H.F.

1961 - Correlation of the fine structure of the gastric parietal cell (dog) with functional activity of the stomach. J. Biophys. Biochem. Cytol., XI, p. 349-363.

SICK K., BAHN E., FRYDENBERG O., NIELSEN J.T., VON WETTSTEIN D.

1967 - Haemoglobin Polymorphism of the American fresh water eel *Anguilla*. Nature, Lond., CCXIV, nr. 5093, p. 1139-1140.

SIMPSON G.G., ROE A. & LEWONTIN R.C.

1960 - Quantitative zoology. New York.

SINHA V.R.P. & JONES J.W.

1966 - On the sex and distribution of the freshwater eel (*Anguilla anguilla* L.). J. Zool., Lond., CL, nr. 3, p. 371-385.

SJÖSTRAND F.S. & RHODIN J.

1953 - The ultrastructure of the proximal convoluted tubules of the mouse kidney as revealed by high resolution electron microscopy. J. Exp. Cell. Res., IV, nr. 2, p. 426-456.

SJÖSTRAND F.S.

1953 - Electron microscopy of mitochondria and cytoplasmic double membranes. Nature, Lond., CLXXI, nr. 4340, p. 30-32.

1956 - The ultrastructure of cells as revealed by the electron microscope. Intern. Rev. Cytol., V, p. 456-533.

SMITH Homer W.

1929 - The excretion of ammonia and urea from the gills of fish. J. Biol. Chem., LXXXI, p. 727-742.

1930 - The absorption and excretion of water and salts by marine Teleosts. Amer. J. Physiol., XCIII, p. 480-505.

1931 - The absorption and excretion of water and salts by elasmobranch fishes. Amer. J. Physiol., XCVIII, p. 296-310.

SOLEWSKI W.

1957 - The structure and the vascular system of the pseudobranchia by the rainbow trout *Salmo irideus* Gibb. Folia morph. Warz., VIII, nr. 1, p. 27-33.

STAEDELER & FRERICH S

1858 - Ueber das Vorkommen von Harnstoff, Taurin und Scyllit in den Organen der Plagiostomen. J. Prakt. Chem., LXXIII, p. 48.

STEEDMAN H.F.

1960 - Section cutting in microscopy. Oxford, 172 pp.

STORK H.A.

1932 - Zur Homologiefrage der Teleostierpseudobranchie. Utrecht, 50 pp.

STRAUSS L.P.

1963 - A study of the fine structure of the so-called chloride cell in the gill of the guppy *Lebistes reticulatus* P. Physiol. Zool., XXXVI, nr. 2, p. 183-198.

SVETINA M.

1962 - Etude synoptique sur la biologie du huchon : *Hucho hucho* Linné, 1758. Fao Fish. Biol. Synopsis 22, F. 62-02755.

1963 - De hucho of Donauzalm (*Hucho hucho* L.). Zoo, Antw., XXIX, nr. 2, p. 58-64.

SYRSKI S.

1874 - Ueber die Reproduktionsorgane der Aale. S.B. Akad. Wiss., Wien, LXIX, p. 315-324.

TAKASUGI N. & BERN H.A.

1962 - Experimental studies on the caudal neurosecretory system of *Tilapia mossambica*. Comp. Biochem. Physiol., VI, p. 289-303.

THIENPONT D. & NIEMEGEERS C.J.E.

1965 - Propoxate (R 7464) : a new potent anaesthetic agent in cold-blooded vertebrates. Nature, Lond., CCV, p. 1018-1019.

THREADGOLD L.T. & HOUSTON A.H.

- 1961 - An electron microscope study of the "chloride-secretory cell" of *Salmo salar* L., with reference to plasma-electrolyte regulation. *Nature*, Lond., CXC, p. 612-614.
 1964 - An electron microscope study of the "chloride cell" of *Salmo salar* L. *Exp. Cell. Res.*, XXXIV, nr. 1, p. 1-23.

TUCKER D.W.

- 1959 - A new solution to the Atlantic eel problem. *Nature*, Lond., CLXXXIII, nr. 4660, p. 495-501.

USSING H.H.

- 1949 - The distinction by means of tracers between active transport and diffusion. *Acta Physiol. Scand.*, XIX, nr. 1, p. 43-56.
 1950 - Active transport and diffusion of ions through living membranes. *Int. Physiol. Congr., Comm.*, XVIII, p. 1-3.
 1953 - Transport through biological membranes. *Ann. Rev. Physiol.*, XV, p. 1-20.
 s.d. - Active and passive transport across epithelial membranes. *Met. Isot. Trac. Appl. Coll. Biol. Saclay*, Lond., p. 139-154.

VAN DUYN C., jr.

- 1950 - Inleiding tot de microscopische techniek. Deventer.

*

VAN HEUSDEN G.P.H.

- 1943 - De trek van de glasaal naar het IJsselmeer. Haarlem.

VIALLI M.

- 1926 - Le pseudobranchie dei pesci. *Arch. Ital. Anat. Embr.*, XXIII, nr. 1.

VICKERS T.

- 1961 - A study of the so-called "chloride-secretory" cells of the gills of teleosts. *Quart. J. Micr. Sci.*, CII, p. 507-518.

VIRABHADRACHARI V.

- 1961 - Structural changes in the gills, intestine and kidney of *Etroplus maculatus* (Teleostei) adapted to different salinities. *Quart. J. Micr. Sci.*, CII, p. 361-369.

WOOD E.M. & YASUTAKE W.T.

- 1957 - Histopathology of fish, V. Gill disease. *The Progressive Fish Culturist*, XIX, nr. 1, p.7-13.

WOODHEAD P.M.J. & WOODHEAD A.D.

- 1959 - The effects of low temperatures on the physiology and distribution of the cod, *Gadus morhua* L. in the Barents sea. *Proc. Zool. Soc. Lond.*, CXXXIII, p. 181-199.

*VAN DYCK M.J.

- 1966 - De Keys-Willmercellen in de kieuwen van migrerende vissen. *Verh. Vlaamse Acad. Kl. Wet.*, XXVIII, nr. 91, 99 p.

LIJST VAN DE PLATEN

I	Ultrastructuur van de Keys-Willmercel	t.o.p. 17
II	Regulatie-capaciteit voor natrium	45
III	Bouw van de kieuwen : kieuwblad	57
IV	Bouw van de kieuwen : kieuwfilamenten	58
V	Bouw van de kieuwen : kieuwlamellen	59
VI	Structuur van de Keys-Willmercellen	61
VII	Ligging van de Keys-Willmercellen	64
VIII	Mucuscellen	66
IX	Pseudobranchiale cellen	68
X	Kieuwsneden van glasaaltjes	70
XI	Kwetsuurexperiment : structuur van de Keys-Willmercellen	80
XII	Kwetsuurexperiment : aantal Keys-Willmercellen	82
XIII	Keys-Willmercellen op het tijdstip der migratie	87
XIV	Spreiding van de Keys-Willmercellen	91
XV	Aantal Keys-Willmercellen in verband met de minerale regulatie bij de Atlantische zalm	94
XVI	Actief-migrerende zalmen	95
XVII	Keys-Willmercellen in parr- en smoltfase	98
XVIII	Dwergzalmen "Blege"	104

