

D. 29/1
doublet

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. III, 16

SECTIO C

30.XII.1948

Z Zakładu Anatomii Porównawczej Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego U. M. C. S.
Kierownik: zast. prof. dr August Dehnel

August DEHNEL

**Przypadek zarodkowej potworności podwójnej u żółwia
błotnego (*Emys orbicularis* L.) obserwowany przyżyciowo**
**The case of embrionic double monstruality of the turtle
(*Emys orbicularis* L.) observed during its development**

Jednym z istotnych zagadnień teratologii i teratogenii jest sprawa tak zwanej pro- i retrokonstrukcji, to znaczy możność odtworzenia jak kształtowały się wcześniejsze stadia rozwojowe znalezionej potwora złożonego, lub też odwrotnie, możność przewidzenia jak taka czy inna forma potworności zarodkowej przedstawiać się będzie w starszych stadiach, lub jaką postać przybierze w postaci postembrionalnej.

Jako regułę np. widzimy w znanym dziele Schwalbe'go: „Die Morphologie der Missbildungen der Menschen und Tiere“, przy opisie każdej realnie istniejącej formy potworności złożonej, schemat rysunkowy, przedstawiający jej hipotetyczną postać we wcześniejszych stadiach rozwojowych, lub też, w przypadkach zarodkowych potworności złożonych, ilustrację jednego lub kilku hipotetycznych późniejszych stadiów opisywanej formy.

Bodaj pierwszy Tur wykazał, że wszelkie tego rodzaju „rysunkowe hipotezy“ są przeważnie pozbawione jakiejkolwiek wartości naukowej i udowodnił to dla kilku schematów podanych przez Schwalbe'go na materiale faktycznym, wykazując na seriach rozwojowych zarodkowych potworności złożonych, że formy wyjściowe dla niektórych potworności są zupełnie różne od tych, które w drodze spekulatywnej przedstawił Schwalbe.

W rozwoju normanym zarodka możemy względnie łatwo uzyskać serię kolejnych stadiów rozwojowych, pozwalającą ustalić z całą dokładnością jak wygląda „rozwój“ danego gatunku. Stałość tych praw

rozwojowych raz zaobserwowana pozwala na bezbłędne, już czysto mysłowe, spekulowanie na wcześniejszych lub późniejszych stadiach w obrębie danego gatunku i na wypełnianie luk. Z pewnym dużym prawdopodobieństwem możemy nawet „per analogiam” wiadomości nasze o rozwoju embrionalnym gatunku rozszerzyć na rodzaj czy rodzinę. W teratogenii są to rzeczy prawie niemożliwe. Uzyskanie dostatecznie dużej serii kolejnych stadiów rozwojowych takiego czy innego typu potworności jest niezmiernie trudne, praktycznie biorąc w tak zwanych „rzadszych” formach potworności złożonych wręcz niemożliwie. Powiedzenie zatem: „Niema dwu jednakowych potworności złożonych” (T u r) jakkolwiek wygląda na paradoks, zawiera w sobie bardzo istotną prawdę. Opisane zarodki złożone znajdują się najczęściej w jednakowych stadiach rozwojowych, tworząc ugrupowania różniące się nieznacznie wiekiem tak, że trudno jest z pewnością powiedzieć, czy są to kolejne etapy rozwoju w obrębie tego samego typu potworności.

Być może, przyczyną tego są zbyt skąpe materiały teratogenetyczne znajdujące się w zbiorach naukowych (niestety najbogatszy chyba w świecie zbiór wczesnych stadiów zarodkowych potworności złożonych Zakładu Anatomii Porównawczej Uniw. Warsz. uległ całkowitemu zniszczeniu w czasie wojny), raczej jednak to, że wobec niejednakowego czasu trwania pewnych stadiów w rozwoju zarodka (D e h n e l, T u r), już tylko z samych statystycznych względów znajdują się one przeważnie w tak zwanych „stadiach węzłowych”, trwających „najdłużej”. Oczywiście mówią tu o tym grubym obrazie morfologicznym, jaki daje nam preparat oglądany „in toto”. Poza tym należy wziąć pod uwagę i to, że w zarodkach złożonych nawet minimalne, prawie niedostrzegalne różnice w układzie zawiązków pierwotnych, mogą zupełnie odmiennie pokierować dalszym biegiem jego rozwoju.

Wszystkie wspomniane powyżej względy sprowadzają wszelkie próby pro- i retrokonstrukcji zwykle na bezdroża. Tym nie mniej stwierdzić należy, że tylko przez taką analizę dało by się np. rozwiązać najistotniejsze zagadnienia teratogenii, jak kwestię synergii i *asymnergii* (T u r 1926), lub sprawę mechanizmu tworzenia się okolic osiowych potworów złożonych, nie mówiąc już o licznych zagadnieniach kormogenezy zarodków normalnych, które dałoby się wyświecić z łatwością na anormalnym, teratologicznym materiale.

Jedynie pewne i przekonujące dane, które pozwoliły by rozstrzygnąć te zagadnienia, możemy, a właściwie mogli byśmy uzyskać tylko z bezpośredniej obserwacji rozwijających się anormalnych zarodków „in vivo” i to możliwie od najwcześniejszych stadiów rozwojowych. Tylko



w ten sposób możemy uzyskać idealną ciągłość stadiów kolejnych, wypełnić istniejące w posiadanym konserwowanym materiale luki i mieć pewność, że rzeczywiście takie czy inne posiadane przez nas stadium rozwojowe potwora podwójnego przechodzi w inne – starsze.

Obserwacje nad rozwojem jaja „in vivo” możemy prowadzić wśród kręgowców we wszystkich grupach poza ssakami. Oczywiście, jakieś specjalne poszukiwanie zarodków złożonych w celu prowadzenia nad nimi obserwacji „in vivo” nie miałoby wielkiego sensu, choćby ze względu na rzadkie występowanie tej potworności. Materiał natomiast uzyskany ubocznie przy innych pracach, winien być wyzyskany. Sądzę na przykład, że przy wszelkich badaniach eksperymentalnych nad gadami i ptakami, gdzie fenestruje się jaja dla dokonania zabiegu i następnie zamyka ponownie, możnaby, poświęciwszy nieco uwagi, zebrać po pewnym czasie znaczną ilość obserwacji dotyczących biegu rozwoju potworów złożonych.

Jak dotychczas, o ile mi wiadomo, znamy tylko jeden przypadek z literatury, tyżący obserwacji potworności złożonej „in vivo”. Mianowicie Kästner w r. 1912 prowadząc badania nad rozwojem *Selachii*, miał w jednym z jajek na pojedynczym żółtku dwie blastodermę. Obserwował je przez niejaki czas, lecz w okresie gdy zarodki zetknęły się, gdy już pojawiły się pierwsze zarysy okolic osiowych, a zatem rozpoczął się najciekawszy, z teratologicznego punktu widzenia, okres, do hodowli wdarła się jakaś infekcja i anormalne jajko uległo zniszczeniu.

Podany przeze mnie przypadek obserwacji potwora złożonego „in vivo” był by drugim z kolei, a pierwszym odnoszącym się do owodniowców (nie licząc badań nad sztucznie rozszczepionymi zarodkami bezowodniowców czy bezkręgowców, gdzie np. u płazów uzyskiwano wielokrotnie larwy wielotwórcze, dające się nawet dłuższy czas utrzymać przy życiu). Zdobyłem go zupełnie przypadkowo w czasie prowadzenia badań eksperymentalnych nad kormogenezą żółwia błotnego (*Emys orbicularis* L.). Po stwierdzeniu, że jedno z jajek przeznaczonych do eksperymentowania jest zarodkiem podwójnym, nie poddałem go zabiegom doświadczalnym, lecz hodowałem przez cztery dni.

Wohec całkowitego zniszczenia zarówno materiałów moich jak i notatek, dotyczących moich badań nad normalnym rozwojem żółwia błotnego, podaję tu w skrócie metodę, jaką się posługiwałem przy hodowli jaj tego gada.

Samice *Emys orbicularis* L. były zbierane w okresie kopulacji lub zaraz po niej, a więc w pierwszych dniach maja. Przechowywane były następnie w chłodnej piwnicy, w basenach napełnionych wodą do wysokości 10 cm. Po stwierdzeniu, że jajka zeszyły do jajowodów i okryły się wapiennymi sporupkami, matki były zabijane, a jajka, po otworzeniu jamy ciała, wyjmowane z jajowodów. Rozpoznać czy jajka są już w ja-

Jajowodzie jest łatwo: przy wprowadzeniu palca między *carapax* i *plastron* w okolicy „pachwiny“ wyczuwa się ich obecność zupełnie dobrze — można nawet określić z dużą dokładnością stadium w jakim się znajdują. Jajka w stadium bruzdkowania mają skorupkę jeszcze miękką, ustępującą pod lekkim nawet uciskiem palca; gdy natomiast wyczuwa się palcem, że skorupka jest twarda o „ptasim“ charakterze, znaczy to, że jajka znajdują się już w stadium gastrulacji. Gastrulacja u żółwia trwa dość długo — jak się zdaje w tym stadium następuje zniesienie jajka. W każdym razie, nawet gdy okres zabijania samic dla wyjęcia z nich jajek trwał kilkanaście dni, nie zdarzyło mi się znaleźć w jajkach jajowodowych starszych zarodków. Zresztą, jak się zdaje, jajka żółwia nie mogą się rozwijać w jajowodzie matki dalej niż do stadium gastrulacji głównie dla tego, że proces wapnienia skorupy odbywa się przez cały czas pobytu jajek w jajowodzie. Doprowadza to po pewnym czasie do bardzo wydatnego zgrubienia skorupy jajka, powstania na jego powierzchni całych złóż wapna, ziarnistości itp. tak, że jajko staje się nie przenikliwe dla powietrza. W rezultacie doprowadza to do asfiksji znajdującego się wewnątrz zarodka.

Po wyjęciu z jajowodu jajka były krótko plukane zwykłą wodą w celu usunięcia z ich powierzchni śluzu i krwi; jedno jajko z serii było otwierane w celu ustalenia stadium rozwoju. Pozostałe jajka były ustawiane w krystalizatorze wypełnionym do połowy wyżarzonym piaskiem, mocno zwilżonym przegotowaną wodą. Jajka były lekko wgniatane w piasek w pozycji ściśle poziomej. Po przykryciu krystalizatora płytka szklaną, pozostawiano jajka w temperaturze pokojowej przez kilka godzin, by żółtko przyjęło normalną pozycję i blastodermą znalazła się u góry. Następnie jajka były fenestrowane, to znaczy było wycinane owalne okienko w skorupce (około $\frac{1}{8}$ powierzchni) z pomocą zwykłych małych nożyczek chirurgicznych o prostych końcach. Skorupka jajka żółwia jest, przeciwnie niż u innych naszych gadów, twarda — to też zabieg wycięcia pewnych jej części jest bardzo łatwy i nie powoduje ani zaginania się krawędzi otworu, ani osłabiania prężności skorupki. Następnie małymi, zagiętymi nożyczkami przy pomocy pipety zdejmowane było galaretowate białko sponad blastodermą (tu do pomocy trzeba było użyć skalpeli i pincet używanych przy operacji oczu), po czym, po dokonaniu zabiegu eksperymentalnego, blastodermą pokrywana była warstwą białka (najczęściej z jajka nie poddawanego zabiegom). Zoperowane jajka umieszczane były w komorze wilgotnej, gdzie zarodki normalnie zupełnie rozwijały się dalej, mimo, że ponad nimi nie było normalnej skorupy. Komorę wilgotną pokrywałem kapturem z czarnego papieru, ze względu na możliwość wpływu światła na rozwijający się zarodek, choć nie stwierdziłem by ostrożność ta była w rzeczywistości potrzebna.

Zarodki rozwijały się dalej w temperaturze pokojowej, a więc od 15° do 20° C. Rozwój przebiegał normalnie. Po kilku dniach w zarodku, który rozpoczynał rozwój obserwowany w stadium gastrulacji, widać było już normalne zarysy wałków nerwowych, pierwsze somity i od tej chwili proces ruszał w szybkim tempie naprzód.

Prymitywne warunki aseptyki doprowadzały do tego, że nie udawało się utrzymać w komorze wilgotnej warunków sterylnych dłużej, niż kilkanaście dni. Zjawiały się bakterie i zarodki pleśni, które atakowały białko jajka i doprowadzały do śmierci zarodków. Ponieważ zachowanie koniecznej aseptyki było zbyt trudne w warunkach, w których pracowałem — jajka trzeba było w czasie wylęgu codziennie przewietrzać, otwierać komorę dla prowadzenia obserwacji, wyjmować jajka, kłaść je pod binokular czy lupę, niekiedy przez kilka minut trzymać na otwartym powietrzu bez żadnej osłony podczas rysowania itp. — postanowiłem raczej iść w kierunku przyspieszenia

rozwoju tak, by móc nie zwracając uwagi na możliwość zakażenia, doprowadzić badany materiał do potrzebnych mi stadiów rozwojowych wcześniej, niż odbije się na nim niszczące działanie bakterii i pleśniaków.

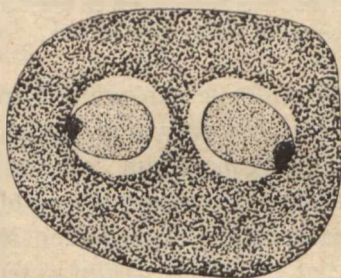
Szereg prób rozwijania jaj w termostacie w temperaturze podwyższonej wykazało, że jajka żółwi rozwijają się zupełnie dobrze lecz w tempie kilkakrotnie szybszym w temperaturach od 25° do 30° C. Temperatura wyższa niż 30° C. wpływała hamująco na rozwój, a nawet zatrzymywała go całkowicie, powodując śmierć zarodka. Niestety wszystkie dane dotyczące wyników moich badań nad wpływem temperatury na rozwój żółwia zaginęły w czasie wojny i nie jestem w stanie odtworzyć ich z pamięci. W każdym razie wielokrotnie otrzymywałem z jajek wylęganych w temperaturze 25—30° C, — młode żółwie, co nie udało mi się nigdy, gdy prowadziłem wylęg w temperaturze niższej — pokojowej. Nawet nie uszkodzone jajko ulegało w czasie rozwoju, trwającego w temperaturze pokojowej przeszło cztery miesiące, zniszczeniu przez pleśniaki, które prędzej czy później dostawały się przez skorupkę jajka do jego wnętrza.

W czasie fenestracji jajek, które miały być poddane zabiegom eksperymentalnym, stwierdziłem, że jeden z zarodków jest potworem podwójnym. Nie poddając jajka tego doświadczeniom, umieściłem je osobno w małym krystalizatorze, przekształconym w komorę wilgotną i poddałem wylęganiu przez pierwsze trzy dni w temperaturze pokojowej. Następnie jajko zostało przeniesione do termostatu i wylęgane w nim w temperaturze 30° C. przez 14 godzin, po czym, wobec pojawienia się procesów niszczących, zarodek został utrwalony, mniej więcej w 4 dni po znalezieniu go, w 30% kwasie azotowym (Dehnel 1927).

Przez okres rozwoju w komorze wilgotnej zarodek był codziennie rysowany w świetle odbitym przy pomocy aparatu rysunkowego Abbé'go. Dwa z tych rysunków przedstawione są w pracy niniejszej. Po utrwaleniu i zabarwieniu karminem alunowym, blastoderma została siatko-grafowana.

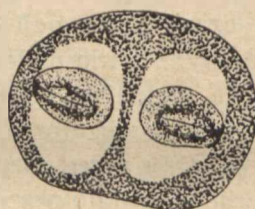
Potworny zarodek żółwia błotnego znajdował się w chwili znalezienia w stadium gastrulacji. Samica, z której pochodziło jajko, miała oprócz niego w jajowodach jeszcze 12 jajek zupełnie normalnych. Wszystkie one, jak stwierdziłem, znajdowały się w stadium identycznym, takim jak każdy z komponentów zarodka podwójnego. Obie tarcze zarodkowe, jak to widać na ryc. 1, wyglądają zupełnie normalnie. Długość każdej z nich wynosiła po 1,5 mm, szerokość zaś, mierzona w miejscu najszerszym, po 1,15 mm. W tylnych częściach obu tarczek widać dobrze zarysowane płytki gastrulacyjne z wyraźnymi wpukleniami prostomalnymi. Tarczki zarodkowe były ułożone względem siebie pod kątem 143° (to znaczy, że pod tym kątem były by ewentualnie ułożone hipotetyczne osie ciał przyszłych zarodków). Każda z tarczek zarodkowych mieściła się w niewielkim polu przezroczystym. Jak widać na ryc. 1, położone są one ekscentrycznie, znajdując się raczej w częściach tylnych pól. Długość pola przezroczystego zarodka lewego wynosiła 1,78 mm, prawego —

1,95 mm; szerokość lewego 1,69 mm, prawego 1,61 mm. Pola te mają kształt prawidłowy, nie różniący się od pól zarodków normalnych w tym stadium. Wymiary ich są również mniej więcej zgodne z wymiarami pól normalnych. Pomiedzy zarodkami rysuje się wyraźny wał żółtkowy o szerokości 0,35 mm, oddzielający obie blastodermę od siebie. Ów pas żółtka, jakby się zdawało, całkowicie uniezależnia od siebie oba zarodki. Mamy tu bowiem przypadek typowego rozwoju „dwupolowego“. Odległość pomiędzy przednimi krawędziami tarczek obu zarodków wynosiła około 0,7 mm; odległość pomiędzy szczelinami prostomalnymi (ściślej — między tylnymi wargami prostom) — 3,63 mm.



Ryc. 1.

Zarodek złożony żółtwa w kilka godzin po znalezieniu $\times 8,4$.



Ryc. 2.

Zarodek złożony żółtwa w trzecim dniu wylęgu $\times 7,1$.

W okresie następnych dwu dni wylęgu w temperaturze pokojowej zarodek nie posunął się zupełnie w rozwoju. Że nie miało to żadnego związku z jego „podwójnością“ świadczyło podobne zachowanie normalnych, kontrolnych zarodków. Temperatura w pomieszczeniu, w którym znajdował się zarodek nie przekraczała 15°C . Trzeciego dnia rozwoju, na skutek upału panującego na dworze, temperatura pomieszczenia, w którym znajdowały się komory wilgotne z rozwijającymi się jajkami żółwi, wzrosła do przeszło 20°C . Wówczas dopiero zarodek, jak i zarodki kontrolne, zaczął rozwijać się znacznie szybciej. Na ryc. 2 widzimy go po trzech dniach rozwoju. Najbardziej rzuca się w oczy zmiana kształtu pól przezroczystych, które rozrastają się bardzo znacznie w szerz, przybierając kształty prawie eliptyczne i odbiegając tym znacznie od zarysów normalnego pola przezroczystego zarodka pojedynczego w tym stadium. Wymiary w tym okresie wynosiły: szerokość pola prawego zarodka 2,76 mm, lewego — 2,64 mm; długość pola lewego i prawego zarodka — jednakowo — po 2,00 mm. Kształt pól przezroczystych jest taki, jakby napierały one na siebie, jakby powstawał jakiś ucisk czy przeszkoda, która doprowadziła do anormalnego rozrostu tych utworów wszertz. Stąd

tak odmienne ukształtowanie przednich krawędzi pól, które u normalnego zarodka mają prawidłowo owalny zarys. Pomiedzy zarodkami istniał jeszcze nadal wał żółtkowy, którego szerokość zmniejszyła się znacznie i wynosiła już tylko 0,21 mm. Szerokość jego w stosunku do poprzednio opisanego stadium zmniejszyła się o 0,14 mm. Mamy tu zatem jak się zdaje do czynienia z niewątpliwą resorbcją wału żółtkowego, którego materiał jest zużytkowany przez rozbudowujący się zarodek, a raczej w danym przypadku — dwa zarodki.

Tarczki rysujące się w każdym z pól nie wykazują większych zmian w stosunku do poprzednio opisanego stadium. Kąt wzajemnego ich nachylenia pozostał ten sam. Natomiast zwiększyła się odległość pomiędzy przednimi krawędziami tarczek, osiągając 0,9 mm, czyli stała się ona obecnie o 0,2 mm większa. Odległość pomiędzy tylnymi krawędziami prostom zwiększyła się również i osiągnęła 3,83 mm — zwiększyła się zatem dokładnie o te same 0,2 mm. Co do rozwoju części osiowych — to zarodki znajdują się w stadium przedłużenia głowowego. Zawiązki strun grzbietowych, mimo że nie barwione żadnym z neutralnych barwików witalnych, były bardzo dobrze widoczne, tak, że dały się nawet uchwycić przy rysowaniu aparatem rysunkowym.

W czwartym dniu wylęgu zarodek podwójny uległ uszkodzeniu. Błona żółtkowa poniżej krawędzi blastodermi przerwała się wskutek otarcia o ostry brzeg okienka w skorupie jajka tak dalece, że wypłynęła kropla żółtka. Wobec stwierdzenia uszkodzenia, które nie pozwoliło by jajka dłużej utrzymać przy życiu, zdecydowałem przyspieszyć rozwój zarodka. Został on umieszczony w termostacie w temperaturze 30° C. Po 17 godzinach wylęgu w tej temperaturze stwierdziłem, że w okolicy przyrannej rozpoczął się jakiś proces rozpadowy. Powierzchnia ranki stawiała się coraz większa tak, że zaczęła zagrażać okolicom osiowym zarodków, rozwijających się dotąd zupełnie normalnie. Wobec powyższego przerwałem dalszy wyląg i utrwaliłem jajko. Po wypreparowaniu blastodermi stwierdziłem, że oba zarodki (ryc. 3) znajdują się w stosunkowo późnym stadium neurulacji. Krawędzie rynienek nerwowych w przyśrodkowych okolicach ciał były już prawie zamknięte. Ku przodowi rysowały się wyraźnie zaznaczone poprzeczne fałdy mózgowe. Zarodki posiadają po 2—3 protosomitów. Długość ich ciał jest jednakowa i wynosi po 1,5 mm. Stadium rozwojowe jest identyczne u obu. Oba zarodki rozwijają się we wspólnym polu przezroczystym, co wyraźnie widać na rysunku zrobionym z fotogramu dokonanego w świetle przechodzącym. Z wału żółtkowego rozdzielającego niegdyś oba zarodki nie pozostało nawet śladu. Ciała komponentów układu ułożone są nadal jeszcze prawie pod tym samym kątem jak w stadiach wcześniejszych. Odległość między przed-

nimi krawędziami mózgów wynosi 2 mm. W tym stadium, jak to wykazały badania Tura (1918) położenia przedniego fałdu mózgowego odpowiada ściśle przedniej krawędzi tarczki zarodkowej, czyli w stosunku do stadium poprzedniego, przedstawionego na ryc. 2 odległość ta zwiększyła się o 1,1 mm. Odległość między metastomami (Tur 1917) wynosi tu 4,9 mm, co w porównaniu do stadium przedstawionego na ryc. 2 daje powiększenie również prawie o 1,1 mm (ściśle 1,07 mm).



Ryc. 3.

Rysunek zrobiony z mikrofotogramu po utrwaleniu z preparatu barwionego. $\times 10$.

Jak widać z powyższego do stadium 3 par protosomitów nie następuje jeszcze rozrost zarodka poza obręb tarczki zarodkowej, tak, że ciało zarodka kształtuje się i buduje na jej koszt, a w każdym razie w jej polu. Przyjmując nawet, że odległość 2 mm między przednimi krawędziami mózgów w stadium przedstawionym na fotogramie jest nieco większa od rzeczywistej, względnie odwrotnie, przyjmując, że odległości 0,7 i 0,9 mm są mniejsze od rzeczywistych ze względu na to, że były mierzone w pewnym rzucie w związku z wypukłością blastodermy na jajku — możemy z całą pewnością stwierdzić, że mamy w tym przypadku obraz realnego odsuwania się od siebie zarodków, obraz zmiany ich wzajemnej pozycji, zachodzący w czasie rozwoju. Wytlumaczyć możemy to sobie tylko tym, że każdy z komponentów stanowi zupełnie niezależną całość, a wzajemne odpychanie się ich od siebie wynika zapewne z interkalarnego wzrostu i rozmnażania się komórek blastodermy położonych między, a właściwie w obwodowych częściach obu komponentów. Zapewne mamy tu do czynienia z prostym zupełnie zjawiskiem, wynikającym z obrastania żółtka przez obie blastodermy. Być może, istnieje jednak jakieś centrum proliferacyjne w okolicy przedgłowej i jemu to zawdzięczamy ów „ruch”. Trudno byłoby rozstrzygnąć to na podstawie jednego przypadku, tym więcej, że choć obserwacja moja ma pewne znaczenia dla zagadnienia kormogenezy, to jednak analiza tych zjawisk przekracza zakres tej, całkowicie teratogenetycznej, pracy.

Potwory zarodkowe u gadów, mimo że zapewne nie są tu rzadsze niż u innych kręgowców, niezbyt często były znajdowane i opisywane. Większość znanych przypadków znajduje się w stadium gastrulacji. Stoi to prawdopodobnie w związku ze wspomnianą powyżej pauzą rozwojową (Dehnel i Tur 1928), która w tym stadium trwa u gadów stosunkowo długo. W stadiach starszych, a więc mniej więcej od neurulacji do okresu kilku czy kilkunastu par protosomitów, znamy zaledwie 4 przypadki. Poza tym mamy jeszcze kilkanaście przypadków prawie dorosłych, a nawet „dorosłych“ potworności złożonych, z tych ostatnich dwa przypadki, gdzie dwugłowy wąż, czy dwugłowy żółw zostały schwytane jako młodociane wprawdzie, ale prowadzące samodzielny tryb życia zwierzęta.

W podobnym stadium jak mój przypadek (nieco tylko starszym — 4—5 par protosomitów) znamy dotychczas jedynie jeden przypadek, opisany przez Gläser'a w r. 1914. Znalazł on w serii zarodków żółwia *Chelone mydas*, przywiezionej przez Voltzkov'a, aż trzy potwory złożone, z których jeden przypomina mój przypadek. Różni się tylko tym, że pomiędzy głowowymi okolicami obu zarodków odległość jest znacznie mniejsza. Kąt nachylenia ciał zarodków jest prawie taki sam w przypadku Gläser'a jak i w moim. Oba komponenty układu rozwijają się podobnie w jednym wspólnym polu przezroczystym. Autor w pracy swej zajmuje się jednak głównie pozostałymi potworami, które były w stadiach wcześniejszych, w okresie gastrulacji, tego zaś, który jest tak podobny do mego przypadku traktuje zupełnie pobieżnie.

Przeprowadzone przeze mnie obserwacje „in vivo“ nad rozwojem złożonego zarodka żółwia od gastrulacji aż do późnej neurulacji pozwalają na wysnucie pewnych wniosków co do genezy i mechanizmu rozwoju tego typu potworności.

Istota pochodzenia potworów złożonych ciągle jeszcze pozostaje zagadnieniem spornym, nie tyle nawet ze względu na brak danych naukowych, ile na skutek ortodoksyjnego podejścia „aut, aut“ do całej sprawy. Tymczasem nie ulega dla mnie wąpliwości, że mamy tu do czynienia ze zjawiskiem typowo „polifiletycznym“. Potwory złożone powstawać mogą bowiem w równym stopniu z wielojądrowego jajka, zapłodnionego przez odpowiednią ilość plemników, jak również przez rozszczepianie pierwotnie pojedynczego zarodka. Zarówno jak ostatecznego dowodu powstawania potworów tylko z jaj wielojądrowych nie dostarcza moja praca nad genezą potworności u żółwia błotnego, tak i dowodu powstawania potworności złożonych przez rozszczepienie nie dają ani znany rozwój bliźniąt jednojajowych u *Tutusiu*, ani prace eksperymentalne nad sztucz-

nym rozszczepianiem zawiązków pojedynczych. Wszystkie te fakty dowodzą tylko możliwości nie zaś wyłączności. Z całą pewnością natomiast stwierdzić możemy, że pewne potwory złożone mogą tylko i wyłącznie powstać w drodze rozwoju z zapłodnionego odpowiednią ilością plemników wielojądrowego jajka (np. przypadek Wetzel'a dotyczący bruzdkujących zarodków *Tropidonotus* i wiele innych), jak również, że istnieją formy zarodkowe potworne, co do których skłonni jesteśmy przyznać, że prawie na pewno powstały z rozszczepienia pojedynczego zawiązku.

Wzór Tura, odnoszący się do wymiarów komponentów układu złożonego czy ich fragmentów, stanowi niewątpliwie pewien wskaźnik, pozwalający z dużym prawdopodobieństwem ustalić genezę danej potworności. Oczywiście słuszny jest on tylko we wczesnych stadiach rozwoju zarodkowego. Moje badania nad rozszczepianiem zarodków kury domowej w stadium 10--12 par protosomitów (1933) wykazały, że wymiary komponentów uzyskanych ze sztucznie rozszczepionej blastodermi w stadium wczesnej smugi, mimo regulacji przebiegającej mniej lub więcej normalnie, są dwa razy mniejsze od normalnych zarodków w odpowiednich stadiach. Ponieważ duży procent samorzutnych zarodków potworów złożonych ma wymiary znacznie mniejsze od normalnych zarodków, jest więcej niż prawdopodobne, że powstały one również na drodze rozszczepienia. W naszym przypadku potworności u żółwia, wydaje się na przykład rzeczą nie budzącą wątpliwości, że mógł on powstać tylko z dwujądrowego jajka. Wskazuje na to choćby ów wał żółtkowy, ulegający stopniowej redukcji w miarę rozwoju zarodków. Należy przypuszczać, że w stadiach wcześniejszych, przedgastrulacyjnych, wał ów był jeszcze silniej rozbudowany. W okresie bruzdkowania niewątpliwie istniały tu dwa osobno rozwijające się centra, rozdzielone nieaktywnym pasem żółtka — rzecz nie do pomyślenia w przypadku, gdyby układ ten powstał w drodze rozszczepienia pierwotnie pojedynczego zawiązku.

Rozwój wyżej opisanego zarodka złożonego rzuca ciekawe światło na wysuwane przez Gerlach'a próby klasyfikacji zarodkowych potworów złożonych na takie, których rozwój odbywa się w jednym wspólnym polu i na rozwijające się w dwu niezależnych od siebie polach rozwojowych. Są to tak zwane mono- i biarealne potwory złożone. Jak to wynika z mojego przypadku, zarodek typowo „biarealny“ w stadium gastrulacji przekształcił się po kilkudziesięciu godzinach rozwoju w zarodek „monoarealny“. Biarealność była w danym przypadku tylko wcześniejszym stadium monoarealności. Oczywiście, na podstawie tego, że czołowe okolice komponentów są dość daleko od siebie położone, możnaby

było suponować w drodze dedukcyjnej, że zapewne był on dwupolowy. Wobec stwierdzenia jednak przeze mnie rozsuwania się obu tarczek w trakcie rozwoju, opieranie się w rozważaniach na absolutnych odległościach między zawiązkami, może prowadzić do zupełnie fantastycznych wniosków.

Próba klasyfikacji potworów zarodkowych na jedno i wielopolowe była zresztą podawana już niejednokrotnie. Pierwszy wystąpił przeciw niej T u r (1926) wykazując, że oparta jest ona na niezbyt istotnych różnicach (co potwierdza mój przypadek) i wprowadził do teratogenii nowy podział, opierający się na tak zwanej synergii i asynergii. Do potworów synergetycznych według T u r a należały by te, które stanowią złożony układ morfogenetyczny, do asynergetycznych zaś te, które stanowią jedynie pewien kompleks wieloosobnikowy. Przy synergii stwierdzamy wyraźną i rzucającą się w oczy współpracę ośrodków, obserwujemy tworzenie się wspólnych okolic, narządów — jednym słowem układ zachowuje się jak pewna całość. Przy asynergii układ złożony nie tworzy takiej szarmonizowanej całości, a nawet przeciwnie: oba zarodki mogą odnosić się do siebie „antagonistycznie“. Rozwijają się one jakby „obok siebie“, mimo iż przez bliskie sąsiedztwo dochodzi tu również do powstania tego, co nazywa się potwornością złożoną. Polega ona jednak z reguły na zupełnie powierzchownych związkach.

Opisany przeze mnie zarodek żółwia należy do typu potworności asynergetycznych, ściśle do typu „Burckhardta-Kästnera“ (T u r 1914), gdyż zawiązki ułożone były do siebie głowami, a pole, przynajmniej we wczesnych stadiach, rozdzielone pasmem elementów żółtkowych. Mimo, iż w późniejszym stadium rozwojowym elementy te zanikały, o żadnym tworzeniu się w opisanym układzie „wspólnych“ części, mowy być nie może, co w pierwszym rzędzie uwypukla owo rozsuwanie się ciał zarodków. Dane wynikające z obserwacji tego potwora „in vivo“ zdają się całkowicie potwierdzać słuszność poglądów T u r a na dalszy bieg rozwoju zarodków złożonych typu „Burckharda—Kästnera“, jak również większość jego teoretycznych rozważań nad klasyfikacją wczesnych potworności zarodkowych.

SPIS LITERATURY.

1. Dehnel G. i Tur J. — O nierównomierności tempa rozwojowego. Kosmos, 53, Lwów, 1928.
 2. Dehnel G. — Badania nad genezą i rozwojem potworności złożonych u żółwia błotnego (*Emys orbicularis* L.). Recherches sur le développement et la genèse des monstres composés chez la Tortue de Polésie (*Emys orbicularis* L.). Arch. Nauk. Biol. Warsz. Tow. Nauk. 2, Warszawa, 1929.
 3. Dehnel G. — O zjawiskach regulacyjnych w sztucznie rozszczepionych zarodkach ptasich. Kosmos, 58, Lwów, 1933.
 4. Gerlach L. — Die entstehungsweise der Doppelmissbildungen bei den höheren Wirbeltieren. Stuttgart, 1882.
 5. Gläsner L. — Über drei Doppelbildungen von *Chelone mydas*, Zool. Anz., 60, 1929.
 6. Kästner S. — Die Entstehung der Doppelbildungen des Menschen und der höheren Wirbeltiere. Fischer, Jena, 1912.
 7. Schwalbe E. — Die Morphologie der Missbildungen des Menschen und der Tiere. Jena, 1906—1907.
 8. Tur Jan — Isledowania nad razwitiem složnych urodstw. Raboty iz Zootomicheskoy Łaboratorij Warszawskawo Uniwersiteta 42, Warszawa, 1911.
 9. Tur Jan — Teorja mezostomy. Sprawozd. Tow. Nauk. Warsz. 10, Warszawa, 1917.
 10. Tur Jan — O kormogenezie w rozwoju kręgowców wyższych. Sprawozdania z poś. Tow. Nauk. Warsz., 11, Warszawa, 1918.
 11. Tur Jan — Zagadnienia wytyczne w embryologii potworów złożonych. Pamiętnik I Zjazdu Anat.-Zool., Warszawa, 1926.
 12. Tur Jan — Potwory i ich rozwój. Zarys teratologii i teratogenji. Trzaska, Evert i Michalski, Warszawa, 1927.
-

SUMMARY.

The author happened to find a double embryo during his experimental studies on the cormogenesis of the turtle (*Emys orbicularis* L.). This embryo, having then been in the stage of gastrulation, was no more subjected to experimental operations but was further incubated for 89 hours i. e. to the late period of neural tubes formation and then fixed. Within its incubation the embryo was from time to time measured and sketched with a camera lucida.

Method and technic of cultivation of turtle's eggs.

Females of *Emys orbicularis* L. were captured in the period of copulation, or just afterwards, i. e. (in Poland) in the first days of May. They were kept then in a cool cellar in tanks filled with water up to 10 cms. After it was ascertained that eggs entered the oviducts and had been covered with calcified shells the females were killed and eggs taken out of the oviducts. It is quite easy to check whether eggs are already in the oviducts. We have only to introduce a finger between carapax and plastron by „groin“, and we can feel the eggs quite easily. It is even possible to define almost accurately their actual stage of development. The egg shells being in the stage of cleavage are still soft and give way even when slightly pressed with a finger. If we feel, however, that the shell is rather hard, like that of a bird's egg, it means that the eggs are already in the stage of gastrulation. The latter stage is, for the turtle, rather long, and it seems that eggs are usually laid within the time of its duration. At any case, older embryos have never been discovered in eggs taken out of the oviducts, even if the period of killing females, in order to obtain their eggs, extended for a week or more. It seems moreover, that turtle's eggs can not normally develop in mother's oviducts further than to their stage of gastrulation — mostly because the process of calcification of shells is going on all the time when eggs remain in the oviducts. This process causes, after some time a thickening of the egg-shells, covered with considerable particles of granulated lime and, thus, impenetrable to air. Finally the asfixion of embryos ensues.

After the eggs been taken out of the oviducts they were, for a short time, rinsed in water to free them from blood and mucus. Afterwards one egg of each series (coming from one female) was opened in order to determine its actual stage of development. The remaining eggs were located in the humide chamber half-filled with sterilised (by heating) sand moistened with boiled water. Eggs were partially plunged in the sand in exactly horizontal position. After covering the humide chamber with a glass-plate the eggs were left for a few hours in a normal temperature, to make yolks to occupy correct position and blastodiscs to be located under the centre of shell's „upper-parts“.

Then the eggs were fenestrated i. e. small oval „windows“ were made in their shells (about $\frac{1}{3}$ of shell's surface) with the help of ordinary small surgical scissors with straight tips. Shells of turtle's eggs are hard unlike the eggs of other our reptiles, shells of which are soft as if made of parchment. Therefore „window-making“ in turtle's egg shells is quite easy and causes neither the edges of the opening to curve nor the remaining part of eggs' surface to lose its resistivity. Afterwards with the help

of small surgical scissors with bent tips and of a pipette the gelatinous albumen was removed from over the blastodiscs (ophthalmic surgery scalpels and pincettes had to be used), and then, after performing an experimental operation, blastodiscs were again covered with albumen taken mostly from eggs which were not subjected to experiment. Then the egg was located in the humid chamber, where the embryos developed further quite normally, in spite of not being covered with a normal shell. The humid chamber was obscured with a hood made of black paper in order to neutralize possible influence of light on the embryos during their development. (It has never been proved, however, that such a precaution is really indispensable). Embryos developed further quite normally in temperature of 15° — 20° C. After about a fortnight the normal outlines of neural grooves as well as the first mesodermal pouches appeared in an embryo which started its development in the stage of gastrulation. The development was hence quite a speedy one.

Primitive aseptic conditions rendered impossible maintaining sterility in the humid chamber for a longer time than a fortnight or so. Some germs and mould spores came from outside and attacked eggs' albumen causing eventually embryos' death. The keeping of necessary sterility was too difficult considering the conditions of my work (e. g. eggs during their development had to be aired every day, the chamber had to be open for making observations and eggs taken therefrom and put under a binocular or magnifying glass, and moreover eggs had to stay, sometimes for a few minutes, in open air, with no protection, when being sketched, etc.). I decided, therefore, to speed up the development of the studied material prior to the appearing of devastating results of germs and mould presence.

Numerous experiments of incubating eggs in higher temperatures, proved that turtle's eggs developed quite normally, though several times faster in 25° — 30° C. The temperature of more than 30° C, delayed the development or even stopped it altogether causing the embryos' death. I regret that all the data concerning my observations as to the influence of temperature on the development of turtles (together with my work on Cornogenesis of reptiles) have been lost during the war and I am now in no position to reconstruct them. At any case, however, I managed to obtain, many a time, young turtles from their eggs after incubating them in the temperature of 25° — 30° C., whereas I never succeeded to achieve it in lower, normal temperatures. Even an uninjured egg, during its development taking in a normal temperature about four months, has been always destroyed by mould which now or then had penetrated inside, through its shell.

On the figure No 1 we see, in $8,4 \times$ enlargement, the double embryo of *Emys orbicularis* L. immediately after it has been found. Both embryonal shields look quite normally; they are 1,5 mm long and 1,15 mm wide. In posterior edges of shields we see gastrulation plates with prostomal invaginations. The angle of shields' declination is 143° . The shields are located excentrically in the small *areae pellucidae*. Length of the right *area pellucida* — 1,78 mm, and of the left one — 1,95 mm. Width of the left — 1,69 mm, and of the right — 1,61 mm. The exterior and sizes of each of the components are like those of a normal single embryo in the same stage. Between both embryos there is a belt of yolk 0,35 mm wide. The double embryo has in this stage typically biareal character.

After three days of incubation (No 2 figure in $7,1 \times$ enlargement) the author observed the growth of *areae pellucidae*. The length of both of them was then 2 mm, and the width of the right one 2,76 mm, and of the left 2,64 mm. The shape of both areas was in that stage deformed, and they were too wide. The belt of yolk separating the embryos narrowed to 0,21 mm and yolk in this part was being apparently resorbed. The embryonal shields did not change their sizes, they were, however, pushed aside, and the distance between them increased — by 0,2 mm to 0,9 mm. In the third day of development the embryos were in the stage of formation of notochord.

On the fourth day (a sketch made from a photographic plate of a slide, was in $10 \times$ enlargement) the embryos were in the late stage of formation of neural tubes. Both of them were in a common *area pellucida*. The belt of yolk, having formerly separated embryos, disappeared completely. The distance between fore-margins of *cerebra*, corresponding to the distance between fore-margins of shields (Tur) was then 2 mm, i. e. it had increased by 1,1 mm when compared to the stage represented on Nr 2 figure.

The author states that the actual pushing aside of embryonal shields caused by the multiplication of cells in the exterior parts of the components could be observed. Each of those components developed like an independant embryo.

In his theoretical demonstration the author shows that all attempts of pro- and retroconstruction, i. e. foreseeing on the ground of earlier stages what a double monstre in its further development would look like, and, vice versa, endeavours of hypothetic reconstruction of any earlier embrional stages of a combined monstre being in the period of, at least organogenesis — are mostly just hypotheses of no scientific value. E. g. in the case under consideration the monstre's character has been completely changed within first four days of its incubation. It has become monoareal instead of biareal one. The embryonal centres located formerly quite near each other, have been pushed aside, and this process would most probably continue during further stages of development. If finally any common form was shaped in the case in question — no deep morphological complications, such as the appearance of common important organs or body-parts would occur; the junction would be only a superficial one.

According to Tur's classification the monstre-embryo under consideration would be a typical asynergetic form.

Then the author compares this monstre to three others, known from literature, double monstres of reptiles, which were in similar stages of development, and he discusses the question of origin of combined monstrualities. He considers that such embryos may be originated as a result of disjunction of a formerly single embryo as well as developed from a double-nucleus egg fertilized by a proper number of spermatozoa — what he had already maintained in his work published in 1929. The good criterion for defining the genesis of monstrualities in early stages of development is the Tur's method based on the absolute dimensions of components of a combined monstre. The author believes that the double embryo described in his paper, has derived doubtless from a double-nucleus egg.

A- 15756

BIBLIOTEKA
J. PIETRZAKOWSKI
w Lublinie

Nakł. 1500. 61 x 86 V kl. 90 g

