

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

Vol. II, 12

SECTIO C.

15.XII.1947

Z Pracowni Zoologii Eksperymentalnej Zakładu Anatomii Porównawczej
Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego U. M. C. S.

Zbigniew STUCHLY

Studia nad metamorfozą płazów
Researches on the Metamorphosis of Amphibians

CZĘŚĆ I. Wyzwalanie przeobrażenia u aksolotla kwantytatywnym blokowaniem układu siateczkowo-śródbłonkowego czynnikiem obojętnym.

PART I. The eliciting of the metamorphosis in axolotls by means of a quantitative blocking of the reticulo-endothelial system with an indifferent factor

...Życie w materii odżywej w powszechności jest ciągłą przemianą formy; w danej formie ciągłą przemianą materii.

Jędrzej Śniadecki:
Teoria Jestestw Organicznych. Tom I, § 148 — r. 1804.

1. Zagadnienie.

Metamorfoza płazów, jako zwierząt ziemno-wodnych związana jest zazwyczaj z wyjściem przeobrażonego zwierzęcia z wody na ląd. Nawet jeśli to ostatecznie nie zachodzi, to obok innych zmian, charakteryzuje się ona utratą skrzel a wykształceniem płuc. Wyjątek od tego stanowią pewne gatunki płazów (np. rodzina *Plethodontidae*) nie posiadające wcale płuc, a oddychające po przeobrażeniu tylko jamą gębową i skórą. W każdym jednak razie forma larwalna różni się dość znacznie od postaci definitywnej. Zazwyczaj również dopiero forma ostateczna ma wykształcone gruczoły rozrodcze i jest zdolna do rozmnażania się. Jednakowoż mamy tu pewne zasadnicze wyjątki: dojrzałość płciowa może mianowicie czasami występować już u form larwalnych: mamy wówczas do czynienia z neotenią lub progenezą.

Biorąc jako kryterium podziału naturalną zdolność do metamorfozy możnaby płazy podzielić na pewne fizjologiczne grupy (Z b. S t u c h l y).

Pierwszą grupę stanowią płazy przechodzące naturalną metamorfozę i dojrzewające płciowo jako formy ostateczne (np. Żaba trawna — *Rana temporaria*).

Do drugiej grupy należy zaliczyć płazy ulegające w pewnych warunkach czasowemu wstrzymaniu, względnie opóźnieniu metamorfozy z silniejszym lub słabszym rozwojem gonad (np. Grzebiuszka ziemna — *Pelobates fuscus*).

Trzecią grupę tworzyć będą płazy przechodzące rozwój skrócony czyli tachygenezę. Zależnie od warunków skrócenie rozwojowe może się mniej lub więcej zaznaczać. W krańcowej postaci z jaja może się wyłogać całkowicie rozwinięta forma. Czasem może zachodzić żyworodność form definitywnych (*Salamandra atra*) lub larw już dobrze wykształconych jak np. u Salamandry plamistej — *Salamandra salamandra*.

Czwartą grupę stanowią płazy neoteniczne, które ulegają przeobrażeniu tylko w specjalnych warunkach, zazwyczaj całe życie przechodząc jako formy neoteniczne. Przykładem tu będzie aksolotl, nazwa polska: wyrybnik (A. W a g a) — *Ambystoma mexicanum*.

Piąta grupa to płazy stale neoteniczne, których form przeobrażonych nie odnaleziono dotąd w przyrodzie, ani nie udało się przeobrazić żadnymi sposobami w hodowli. Przykładem jest Odmieniec jaskiniowy — *Proteus anguineus*.

Podział na tych pięć grup nie jest ani podziałem systematycznym ani podziałem ściśle rozgraniczającym. Jest to raczej zarys obrazu wielkiej różnorodności i plastyczności rozwojowej u płazów.

Pierwsze doświadczalne badania nad mechanizmem metamorfozy u płazów przeprowadził G u d e r n a t s c h i w roku 1912; karmiąc kijanki żab świeżym gruczołem tarczycowym bydlęcym, znacznie przyśpieszył ich metamorfozę. W roku 1913, tą samą metodą, B á b á k przeobraził aksolotla w amblistomę.

Prace z tej dziedziny możnaby podzielić ogólnie na dwie grupy zagadnień:

- 1) zbadanie w ogóle mechanizmu metamorfozy u płazów;
- 2) poznanie czynników wyzwalających metamorfozę u płazów neotenicznych.

W odniesieniu do pierwszej grupy zagadnień wiemy dziś, biorąc rzecz ogólnie, że warunkiem metamorfozy płazów jest wchłon tarczycy, którego hormonem nadrzędnym jest inkret tyreotropowy przedniego płata przysadki mózgowej.

Natomiast poznane czynniki a raczej bodźce, wyzwalające metamorfozę u płazów neotenicznych można podzielić na następujące grupy:

- 1) czynniki fizyczne: wpływ temperatury, dopływ powietrza, normowanie ilości wody (Chauvin, Shufeldt)
- 2) czynniki chemiczne: kwas salicylowy (Laura Kaufman) związki jodowe, jod (Hirschler)
- 3) czynniki biochemiczne: tyreoidyna (Lauferger, L. Kaufman).

Tu należy zaznaczyć, że czynnik biologiczny taki jak głodzenie może wywierać na proces metamorfozy u płazów działanie różne. Samo głodzenie u płazów neotenicznych nie wyzwała przeobrażenia (L. Kaufman). U płazów przechodzących normalne przeobrażenie głodówka zastosowana po rozpoczęciu właściwego procesu działa przyspieszająco, natomiast zastosowana przed rozpoczęciem inwolucji organów larwalnych, działa opóźniająco na metamorfozę.

Inwolucja organów larwalnych, w czasie procesu metamorfozy polega na równoczesnej histolizie i fagocytozie. Histoliza warunkowana jest obecnością w ustroju zwierzęcia swoistych ciał. Nie wchodząc w istotę tych ciał ani w zagadnienie przebiegu samej reakcji histolitycznej, trzeba jednak podkreślić, że jest ona wybitnie swoista. Histolizie ulegają tylko pewne komórki, tkanki i organy ustroju larwalnego, natomiast inne są na jej działanie odporne. Przyjąć należy więc, że u płazów istnieje pewna genetyczna dyspozycja tkankowa w odniesieniu do histolizy oraz do przetrwania pewnych tkanek w procesie metamorfozy.

Jak ciała czynne w histolizie tak fagocyty w fagocytozie w czasie metamorfozy wykazują swoistą wybiórczość. Proces jednak histolizy jest procesem humoralnym, natomiast fagocytoza jest procesem komórkowym i to związanym nie tylko z samymi fagocytami ale również z całym układem komórek, którego fagocyty są tylko częścią składową. Układ ten zwany także układem żernym, histiocytarnym lub czynnej mezenchymy określany jest jako układ siateczkowo-śródbłonkowy. Został on wykryty metodą barwienia przyżyciowego i ma zdolność wychwytywania i pożerania ciał białkowych. Przez wewnątrz - komórkowe trawienie bierze udział w przemianie materii.

Barwiki przyżyciowe działające na układ siateczkowo-śródbłonkowy dzielimy na dwie grupy: barwiki zasadowe jak czerwień obojętna, zieleń janus i błękit metylenu i barwiki kwaśne jak błękit trypanu i karmin. Prócz tych barwików układ siateczkowo-śródbłonkowy wychwytuje wprowadzone do ustroju drogą pozajelitową elektroujemne ciała koloidalne jak kolargol, elektrargol, dispergan, elektroferol, ocukrzony tlenek żelazisty (ferrum oxydatum saccharatum), wreszcie czynniki takie jak tusz chiński albo preparat oliwy o bardzo małych cząstkach zwany oleo-konjolem itp.

Do układu siateczkowo-śródbłonkowego zaliczamy: komórki Browicza—Kupffera w wątrobie, siateczkowe i śródbłonkowe komórki zębu i zatok żylnych w śledzionie, siateczkowe i śródbłonkowe komórki zębu i zatok gruczołowych w gruczołach limfatycznych, w szpiku kostnym, w korze nadnerczy, w przysadce mózgowej, w grasicy i splocie naczyniówkowym, śródbłonkowe komórki naczyń krwionośnych oraz tkankę łączną występującą w systemie nerwowym. Wreszcie tak zwane histocyty czyli komórki wędrujące w stanie spoczynku, występujące w tkance łącznej. Istnieje kilka rodzajów klasyfikacji elementów zaliczanych do układu siateczkowo-śródbłonkowego, właściwie ogólnie rzecz biorąc wszystkie komórki rozsiane po całym ustroju czy to w tkankach czy w płynach, a posiadające zdolność fagocytozy wiążą się w jedną całość.

Układ siateczkowo-śródbłonkowy pochodzi z mezodermy a ściślej mówiąc z mezenchymy. Ssaki mają duże skupienie elementów tego układu w śledzionie, ptaki zaś w wątrobie. Komórki tego układu mają zdolność gromadzenia obok barwików witalnych, elektroujemnych ciał koloidalnych, tuszu itp., ale tylko do pewnej granicy, po przekroczeniu której przepuszczają już dany czynnik; określamy to jako blokadę czyli zacopowanie układu siateczkowo-śródbłonkowego. Jeśli się przerwie podawanie czynnika blokującego, po jakimś czasie następuje odczyszczenie ustroju z tegoż czynnika. Jeśli się jednak mimo przepuszczania czynnika blokującego nie przerwie podawania tegoż, to przychodzi do zablokowania całkowitego kończącego się z reguły śmiercią zwierzęcia. Zablokowanie układu siateczkowo-śródbłonkowego u jakiegoś zwierzęcia jednym czynnikiem (np. jakimś barwikiem) aż do momentu przepuszczania, nie wyklucza możliwości dalszego blokowania innym czynnikiem (np. jakimś roztworem koloidalnym), który znowu będzie wychwytywany przez ten sam układ aż do pewnego momentu nasycenia. Czynniki blokujące układ siateczkowo-śródbłonkowy stymulują jego działalność przede wszystkim zwiększając rozplem jego elementów, następnie zwiększając żerność jego komórek, wreszcie produkcję specyficznych ciał będących jego wytworem; zwiększona jego czynność wpływa wybitnie na cały ustrój. Oczywiście objawy obserwowane w ustroju mogą być czasem tylko pośrednio wywołane przez układ siateczkowo-śródbłonkowy, gdyż ten może działać w danym wypadku bezpośrednio na układ wegetatywny lub układ gruczołów wewnętrznego wydzielania. Prawdopodobnie również żaden proces w ustroju nie odbywa się bez odczynu ze strony układu siateczkowo-śródbłonkowego. Nie wchodząc tu w zagadnienia patologii i terapii człowieka czy zwierząt hodowlanych, gdzie te problemy są szeroko rozpatrywane, wspomnę tylko, że pewne odczyny ze strony układu siateczkowo-śródbłonkowego mogą być dla ustroju korzystne, pewne zaś wręcz

szkodliwe np. (podaję wedle T. Ż u l i Ń s k i e g o i J. Z a d u r y): blokada układu siateczkowo-śródbłonkowego u królika prowadzi do zmniejszenia się fibrynogenu we krwi i przedłużenia się czasu jej krzepnięcia. Przykład drugi: w leczeniu kiły stosuje się rtęć, następnie antymon, wreszcie związki arsenowe i bizmutowe. Preparaty te nie niszczą krętków bezpośrednio, tylko pobudzają układ siateczkowo-śródbłonkowy do silniejszej reakcji obronnej. Procesy obronne ustroju są więc wyzwolone bodźcami działającymi na układ siateczkowo-śródbłonkowy. Na ogół łatwiej jest wzmoczyć czynność układu siateczkowo-śródbłonkowego blokowaniem, niż porazić. Istnieją jednak czynniki, które osłabiają lub porażają częściowo czynność tego układu; do nich należą np. nadmierne naświetlanie promieniami Roentgena, awitaminoza (eksperymentalny szkorbut świnek morskich, eksperymentalna choroba ryżowa gołębi), wycięcie tarczycy, nadmierne blokowanie, w pewnych wypadkach wycięcie śledziony itp. W odniesieniu jednak do czynników pobudzających układ siateczkowo-śródbłonkowy, to istnieje pewien indywidualny dla danego ustroju próg pobudliwości, optimum działania i porażające nadmierne działanie czynnika tak, że te same czynniki, które w pewnej dawce pobudzają, w innej (nadmiernej) mogą osłabić czynność układu siateczkowo-śródbłonkowego jak np. fagocytozę. Również w różnych częściach układu siateczkowo-śródbłonkowego różne ciała blokujące gromadzą się rozmaicie. Wydalanie z ustroju zdeponowanego czynnika także jest rozmaite a zależne od jego jakości i od sprawności układu w danym czasie.

2. Własne badania doświadczalne.

Celem podjętych przeze mnie studiów jest wyświetlenie, w miarę możliwości, stosunku układu siateczkowo-śródbłonkowego do metamorfozy. Analiza eksperymentalna roli układu siateczkowo-śródbłonkowego w czasie metamorfozy płazów, musi być podzielona na pewne grupy doświadczeń, tak co do materiału zwierzęcego jak i zastosowanych metod.

Tutaj omówię pewne moje doświadczenia, które rzucają nieco światła na to ciekawe zagadnienie.

Eksperyment przeprowadziłem na aksolotlach (*Ambystoma mexicanum*) dużych okazach neotenicznych, z których najmniejszy liczył 20 cm a największy 25 cm długości, licząc od otworu gębowego do końca ogona. Łączna ilość zwierząt użytych w tym doświadczeniu wynosi 16 sztuk, w tym 8 okazów białych i 8 okazów ciemnych.

Do doświadczeń użyłem następujących odczynników:

- 1) 1% roztwór czerwieni obojętnej w płynie izotonicznym,
- 2) 1% roztwór błękitu trypanu w płynie izotonicznym,
- 3) roztwór tuszu.

Chlorek sodowy użyty do sporządzania płynów izotonicznych był chemicznie czysty (wolny od jodu!). Tusze używałem dwojakiego rodzaju, najlepszym okazał się w moich warunkach: Tusz „H“ do metody Burriego firmy Hollborn & Söhne Leipzig z dodatkiem na 10 ml 80 mg NaCl.

Z trzech użytych przeze mnie odczynników—błękitu trypanu, czerwieni obojętnej i tuszu, ten ostatni (jako czynnik obojętny), okazał się najkorzystniejszym do doświadczeń, ponieważ dwa pierwsze są zbyt toksyczne, zwłaszcza błękit trypanu, który jednak najszybciej blokuje.

Chcąc pozajelitowo wprowadzić czynnik blokujący, zastosowałem zastrzyki podskórne, śródskórne i dootrzewnowe. Do zabiegów użyłem strzykawkę „Record“ o pojemności 1 ml oraz igły najmniejszych rozmiarów jakiej używa się do zastrzyków śródskórnych w medycynie. Wszystkie zastrzyki robiłem zwierzętom bez stosowania narkozy. Zastrzyki podskórne robiłem na grzbiecie po obu stronach pletwy na wysokości łędźwiowej w kierunku dogłowym. Zastrzyki śródskórne robiłem do pletwy grzbietowej lub ogonowej od strony grzbietu wzdłuż jej biegu, w tym wypadku zdeponowany czynnik wytwarzał banieczkę (pęcherzyk). Udany zastrzyk musi być wykonany szybko i jednorazowo, aby zwierzę jak najmniej to odczuwało.

Pierwsze doświadczenia miały na celu wyświetlenie następujących kwestii: 1) jak wygląda częściowe blokowanie układu siateczkowo-śródbłonkowego u aksolotla, 2) jak dochodzi się do zablokowania całkowitego kończącego się śmiercią zwierzęcia i wreszcie 3) jak po częściowym blokowaniu następuje odczyszczenie ustroju.

Przede wszystkim przekonałem się, że stopniowe zwiększanie blokady u aksolotla wygląda inaczej aniżeli u ssaków (królik). U aksolotla przejście od zablokowania częściowego, przez przepuszczanie układu siateczkowo-śródbłonkowego do całkowitego zablokowania jest bardzo trudno uchwytnie tak, że dawkowanie czasem za małe dla jednego zwierzęcia, jest w podobnym doświadczeniu u innego za wielkie.

Szybkość resorbowania czynnika w ustroju bywa różna. Wprowadzony dootrzewnowo w tej samej ilości taki sam czynnik blokujący, u dwóch jednakowej klasy wielkości aksolotli, jest resorbowany w niejednym czasie. Wprawdzie oba zabarwiają się na zewnątrz podobnie, jednak sekcja wykazuje u jednego całkowitą resorbcję w jamie otrzewnowej, u drugiego zaś po tym samym czasie znajduje się jeszcze duża ilość zdeponowanego czynnika.

Przy blokowaniu częściowym, usuwanie czynnika blokującego z ustroju również odbywa się rozmaicie. Niektóre osobniki po zastrzyku wydzielają duże ilości śluzu, z którym jest wydalany stosunkowo szybko

czynnik blokujący. Inne na parcjalne czopowanie elementów układu siateczkowo-śródbłonkowego reagują ogólnym i długotrwałym osłabieniem w czasie którego powoli następuje odczyszczenie ustroju. Różnice w reagowaniu opisane powyżej odnoszą się do tych samych dawek tego samego czynnika u zwierząt tej samej klasy wielkości i hodowanych w tych samych warunkach. Przy stosowaniu różnych odczynników obraz już jest zupełnie inny.

Błękit trypanu użyty w nieco większej dawce (np. łączna ilość: 1 ml 1% roztworu izotonicznego dootrzewnowo) wywołuje po pewnym czasie krwawienie przewodu pokarmowego do jego światła i to po całkowitej resorpcji barwika z jamy otrzewnowej. Czerwień obojętna blokuje względnie powoli i wolno jest wydalana. Roztwór tuszu hypotoniczny jest wydalany prędzej niż roztwór izotoniczny. Jeśli jednak chodzi o samo blokowanie układu siateczkowo-śródbłonkowego, bez ubocznych oddziaływań użytego odczynnika, to najlepszym okazał się izotoniczny roztwór tuszu.

Samo blokowanie układu siateczkowo-śródbłonkowego jeszcze nie jest sprawą najistotniejszą, najważniejszą jest reakcja układu na ten bodziec, oczywiście przy blokowaniu częściowym. Okazuje się, że dozowanie tego samego czynnika, może w zależności od kwantum, wywołać rozmaite stany czynne układu siateczkowo-śródbłonkowego, co oczywiście pociąga za sobą różne reakcje całego ustroju.

Dla zilustrowania tegoż podam opis jednego z doświadczeń, którego wyniki są specjalnej doniosłości. Do właściwego eksperymentu użyto dwa egzemplarze aksolotla, równocześnie obok w tym doświadczeniu uwzględniono jeden egzemplarz kontrolny i jeden egzemplarz porównawczy.

Zwierzęta eksperymentalne: Aksolotl nr 9 — samica biała długości 21 cm wagi 74 gr. Aksolotl nr 10 — samica biała długości 20 cm wagi 67 gr.

Pierwszy dzień doświadczenia:

aksolotl nr 9 i aksolotl nr 10: zastrzyk podskórny tuszu (0,1 ml izotoniczny).

Dziewiąty dzień doświadczenia:

aksolotl nr 9 i aksolotl nr 10: zastrzyk podskórny tuszu (0,1 ml).

W miejscach zastrzyków powstaje ciemne zabarwienie rozchodzące się po obu stronach grzbietu regularnie i tworzące jakby dwa trójkąty wierzchołkiem zwrócone do tyłu po obu stronach pletwy, z tym że miejsce zastrzyku zostaje ciemniejsze na ciemnym tle otoczenia.

Czternasty dzień doświadczenia:

aksolotl nr 9 i aksolotl nr 10: dobrze widoczne zmiany u obu zwierząt doświadczalnych, zmniejszenie się skrzel, zwiotczenie pletwy grzbietowej

i ogonowej, tej ostatniej zwłaszcza od strony dolnej; zmniejszenie się palców w kończynach (zwłaszcza przednich).

19 dzień doświadczenia:

u aksolotla nr 10 intensywne łuszczenie się płatów naskórka z tuszem na grzbiecie, w miejscu zastrzyku. U aksolotla nr 9 zmiany lityczne bardzo silne, w lewej kończynie przedniej palce zanikły, w prawej widać tylko dwa palce, w tylnych kończynach procesy zanikowe postępują. Procesy te są lityczne a nie nekrotyczne. (Zdarzają się egzemplarze aksolotla, które mają bardzo słabo rozwinięte palce, zwłaszcza w kończynach przednich, czasem mają palce obgryzione, w tym jednak wypadku takie okoliczności nie zachodziły. Zwierzęta doświadczalne miały przed rozpoczęciem eksperymentu odnóża i palce normalne). Pletwa grzbietowo-ogonowa jeszcze silniej zwiotczała cała przekrwiona. Zwłaszcza na końcu ogona przekrwienie bardzo silne. Długość zwierzęcia zmniejszyła się o 0,5 cm. W miejscu uklucia zbliznowacenie okrągłe rozlane. W miejscu, gdzie pod skórą zdeponowano tusz, naciek w kształcie podłużnego czarnego pęcherza, z prawej strony większy, z lewej mniejszy na tle regularnie ciemno zabarwionego grzbietu po obu stronach pletwy w okolicy krzyżowej. Sfotografowano go o godz. 10.

21 dzień doświadczenia:

aksolotl nr 10: dalsze łuszczenie się płatów naskórka z tuszem z grzbietu. Aksolotl nr 9: procesy lityczne postąpiły bardzo silnie naprzód, długość zwierzęcia zmniejszyła się do 20 cm, a więc o dalsze 0,5 cm, ogon silnie zmałał, podobnie jak pozostałe palce, dalsza redukcja pletwy i skrzel, egzoftalmia, głowa z kształtu łopatkowatego przechodzi w kształt bardziej owalny. Zwierzę padło -- sfotografowano je o godz. 15, następnie zrobiono sekcję i zakonserwowano do badania histologicznego niektóre organy.

33 dzień doświadczenia:

aksolotl nr 10: metamorfoza postępuje (łuszczenie się naskórka z całego ciała).

35 dzień doświadczenia:

aksolotl nr 10: dalsze łuszczenie się płatów (z tuszem) w miejscu zastrzyku, pletwa w tym miejscu zanikła. Na pozostałej powierzchni ciała powstają jakby drobne banieczki, jest to naskórek w stadium poprzedzającym linienie.

Po południu tegoż dnia, w miejscu gdzie złuszczone została skóra obok pletwy na grzbiecie pękło naczynie krwionośne i powstał mały krwotok, ponieważ w tym miejscu jest ubytek nie tylko naskórka, ale i uszkodzona skóra; zmniejszyłem nieco poziom wody tak, by to miejsce grzbietu wyszło ponad wodę, głowa jednak i skrżela są zanurzone. Po kilku

godzinach rana przyschła na brzegach, krwotok ustał zupełnie, natomiast w środku ubytku skórniego wydzieliło się trochę surowicy. Ciekawe jest zachowanie zwierzęcia: nie porusza resztkami skrzeli w wodzie, natomiast co jakiś czas podnosi się, wystawia głowę nad powierzchnię i łapie paszczą powietrze atmosferyczne.

36 dzień doświadczenia:

aksolotl nr 10: z całej powierzchni ciała złuszczył się naskórek drobnymi płatkami, dalsze redukcje skrzeli oraz pletwy, ogon przeświała, widoczny jest kostniejący szkielet ogona.

37 dzień doświadczenia:

aksolotl nr 10: ze względu na dalszą redukcję skrzeli, pletwy, przekształcanie się głowy i łapanie powietrza atmosferycznego, zmniejszyłem ilość wody.

38 dzień doświadczenia:

aksolotl nr 10: złuszczył się naskórek z całego ciała; dalszy proces przeobrażania się, silne przekrwienie pletwy i ogona, w ogonie widać dobrze kostnienie kręgów. Zwierzę silnie osłabło, zwija ogon na bok; przekształcanie się całego tułowia. Zaczyna oddychać też płucami wydając przy tym czasami pewien głos. Kostnieje również szkielet palców w tylnych kończynach. Przednie kończyny od pierwotnej redukcji nie zmieniły się.

39 dzień doświadczenia:

aksolotl nr 10: zanik skrzeli i pletwy jeszcze silniejszy, głowa z kształtu łopatkowatego przechodzi w owalny. W miejscach zastrzyku zachodzi liza skóry właściwej tak, że powstaje ubytek odsłaniający mięśnie grzbietu i zdeponowane resztki tuszu. Silne zaczerwienienie powierzchni skóry na głowie i grzbiecie. Pletwa na grzbiecie prawie zanikła.

41 dzień doświadczenia:

aksolotl nr 10: zwierzę nie przyjęło pokarmu.

42 dzień doświadczenia:

aksolotl nr 10: metamorfoza posunęła się dalej. Silny zanik pletwy i skrzeli oraz skóry w miejscu zastrzyków. Zwierzę silnie osłabło. Niema skrócenia długości ciała. Zwierzę padło, o godz. 21 sfotografowano je i wzięto niektóre organy do badania histologicznego. Równocześnie sfotografowano zwierzę kontrolne aksolotl nr 12, samica biała długości 22 cm wagi 65 gr. Zwierzę hodowane w tych samych warunkach w ciągu 123 dni obserwacji doświadczalnej nie wykazało żadnych objawów metamorfozy.

Podaję równocześnie obserwację porównawczą. Aksolotl nr 4 samiec ciemny długości 23 cm wagi 100 gr.

1	dzień	doświadczenia:	0,1 ml tuszu	podskórnice.
2	"	"	0,1 " "	" "
3	"	"	0,1 " "	" "
5	"	"	0,1 " "	" "
7	"	"	0,1 " "	" "
9	"	"	0,1 " "	śródkórnice.
12	"	"	0,1 " "	" "
118	"	"	: niema żadnych objawów meta-	

morfozy, nie widać śladów po zastrzykach podskórnych, w miejscach zastrzyków śródkórnych drobne zbliznowacenia, są to zapadnięte pęcherzyki.

W laboratorium w czasie przeprowadzania tego doświadczenia minimum temperatury powietrza wynosiło $+ 10^{\circ}\text{C}$. maximum $+ 20^{\circ}\text{C}$.

Zwierzęta doświadczalne i kontrolne trzymane były w dużej ilości wody przykrywającej je całkowicie. Woda zmieniana była codziennie z wyjątkiem niedzieli. Temperatura jej po pobraniu z wodociągu wahała się w zależności od pogody między $+ 5^{\circ}\text{C}$. a $+ 10^{\circ}\text{C}$. Zwierzęta karmione były obficie dwa razy na tydzień świeżym mięsem wieprzowym lub wołowym.

Aksolotl nr 9 i aksolotl nr 10: każdy z nich z osobna otrzymał łącznie po 0,2 ml tuszu. Aksolotl nr 4 dostał razem 0,7 ml tuszu. Zachodzące różnice w reagowaniu na ten sam bodziec aksolotla nr 9 i aksolotla nr 10 odnieść należy nie tylko do indywidualnego odczynu ustroju na identyczne dawki, zjawisko które zresztą już obserwowalem w innych eksperymentach z blokowaniem układu siateczkowo-śródbłonkowego, lecz do różnicy w dawce, która wytworzyła się spontanicznie w ciągu samego doświadczenia. Aksolotl nr 10 dostał oba zastrzyki podskórnice na grzbiecie w pobliżu pletwy i w miejscu tym nastąpiło wielokrotne linienie się płatów naskórka przepojonych tuszem tak, że część tuszu została wyeliminowana tą drogą i cały proces przebiegał wolniej. Natomiast aksolotl nr 9 zastrzyki otrzymał dalej od pletwy i nieco głębiej tak, że nie wydzielił skóry niczego, cały proces ze względu na większą ilość bodźca był intensywniejszy. W obu jednak wypadkach procesy lityczne były zbyt gwałtowne tak, że doprowadziły do zejścia.

Doświadczenie porównawcze wskazuje, że nie specyficzność czynnika, ale tylko działanie pewnego kwantum bodźca ma znaczenie. Zresztą zjawisko podobne obserwowalem przy blokowaniu błękitem trypanu, mała dawka nie wywołała żadnej reakcji, pewna doza była skuteczna, większe dawki hamowały całkowicie rozpoczęty proces. Błękit trypanu nie jest jednak czynnikiem obojętnym, jak wszystkie barwinki używane do blokowania układu siateczkowo-śródbłonkowego, ma również pewne dzia-

lanie uboczne. Tusz jest czynnikiem obojętnym, zwłaszcza jako roztwór izotoniczny, natomiast płyny hypotoniczne i hypertoniczne nie są obojętne dla układu siateczkowo-śródbłonkowego.

Wyniki powyższego doświadczenia wskazują, że zachodzi tu eksperymentalne wyzwolenie metamorfozy u aksolotla kwantytatywnym blokowaniem układu siateczkowo-śródbłonkowego czynnikiem obojętnym. Oczywiście musi się na odpowiednio dużym materiale wymiarować dozę, tak by doprowadzić metamorfozę do końca. Następnie trzeba wypróbować działanie jeszcze innych czynników obojętnych, blokujących układ siateczkowo-śródbłonkowy, wreszcie na materiale porównawczym stwierdzić działanie tych czynników u innych gatunków płazów. (Zagadnienia te są na moim warsztacie). Jeśli te badania potwierdzą powyższe spostrzeżenia, to do dotychczasowych czynników fizycznych, chemicznych i biochemicznych przybędzie jeszcze jeden nowy, czysto biologiczny czynnik, wyzwalający metamorfozę u płazów neotenicznych.

Tutaj muszę przypomnieć, że duże aksolotle nie przeobrażają się dobrze, to znaczy, że w czasie tego bądź co bądź ciężkiego przejścia dla organizmu spory ich odsetek ginie. Również odpowiednie dozowanie czynnika wyzwalającego metamorfozę form neotenicznych jest bardzo ważne. W pierwszych doświadczeniach *Laufberger'a* (nie dozowane podawanie świeżego gruczołu tarczowego) wszystkie zwierzęta eksperymentalne zginęły. Ubocznie dodam, że w hodowlach laboratoryjnych normalnie przeobrażających się płazów, bardzo duży ich procent ginie w okresie metamorfozy.

W pracy *Hirschlera* nad wyzwoleniem metamorfozy przez parenteralne podanie prostych związków jodowych, z dwóch opisanych przypadków jedno zwierzę ginie przed ukończeniem metamorfozy, a drugie określa autor, że „jest już raczej amblistomą niż aksolotlem” nie podaje jednak jak długo to zwierzę po przeobrażeniu żyło. W doświadczeniach *Gudernatsch'a* i *Romeis'a* na kijankach, zwierzęta doświadczone nie długo żyły po przejściu przyśpieszonej metamorfozy. Dopiero metoda *L. Kaufman* (ściśłego dozowania tyreoidyny w tabletkach) pozwoliła na doprowadzenie eksperymentalnej metamorfozy do końca. Zresztą wszystkie czynniki którymi wyzwalano metamorfozę są bodźcami uruchamiającymi lepiej lub gorzej mechanizm tkwiący w ustroju badanym. Rzecz tę rozumiał już *Hirschler* (r. 1920) pisząc „...doświadczenia wykluczają... możliwość, iżby substancja tarczowa wprowadzona do organizmu larwalnego mogła przy pomocy ciał w niej zawartych działać histo- i cytolitycznie. Ponieważ jednak podczas metamorfozy właśnie procesy histo- i cytolityczne wybijają się, jak wia-

domo na pierwszy plan, przeto substancję tarczycową musimy uważać za czynnik, który w drodze bliżej nieznannej, wywołuje tylko aktywację fermentów litycznych“.

3. Omówienie ogólne.

Nasuwa się teraz pytanie, jak możemy sobie wyobrazić cały mechanizm metamorfozy, zwłaszcza w świetle opisanych eksperymentów. Stawiam następującą hipotezę roboczą:

Układ siateczkowo-śródbłonkowy jest tym bezpośrednim układem, który przeprowadza proces metamorfozy przez produkcję fermentów litycznych i czynności fagocytarne swoich elementów. Układ ten aktywowany jest przez układ gruczołów wewnętrznego wydzielania. Wreszcie działalność tych obu układów t. j. siateczkowo-śródbłonkowego i gruczołów wewnętrznego wydzielania związana jest z działalnością układu nerwowego autonomicznego. Te wszystkie trzy układy w ścisłej zależności, są z sobą w pewnej dynamicznej równowadze której naruszenie powodować może rozmaite zmiany w ustroju, tak czynnościowe jak anatomiczne bądź natury fizjologicznej bądź teratologicznej lub patologicznej, zwłaszcza w czasie procesów morfogenetycznych, wśród których metamorfoza jest jednym z najważniejszych. U zwierząt neotenicznych istnieje pewna równowaga między czynnikami hamującymi i wyzwalającymi metamorfozę, zaburzenie tej równowagi czy to przez zwiększenie czynnika aktywującego, czy też zmniejszenie czynników hamujących, wyzwala metamorfozę.

Częściowa blokada układu siateczkowo-śródbłonkowego aktywuje żerność jego komórek i zdolność lityczną ustroju. W odniesieniu do bodźca zastosowanego można przyjąć dwie możliwości: albo wyzwolony proces lityczny, którego siła przekracza normalną lizę w metamorfozie (aksolotl nr 9 zanik nie tylko błony między palcami, ale i samych palców; aksolotl nr 10 liza skóry na grzbiecie) zwiększa również bezpośrednio lub pośrednio czynność tarczycy, albo olbrzymia liza związana z wychwytywaniem i wydalaniem czynnika blokującego, usuwa po prostu opory tak, że nawet przy niskim poziomie czynności tarczycy wystarcza jej funkcja by metamorfoza zaistniała. Chodzi tu przede wszystkim o procesy twórcze w metamorfozie, jak np. kostnienie szkieletu. Procesy inwolucyjne uwarunkowane czynnością układu siateczkowo-śródbłonkowego stymulowane są właśnie bodźcem eksperymentalnym. Którą z możliwości należałoby przyjąć, rozstrzygnąć może badanie tarczycy w czasie całego tego procesu. To jednak będzie tematem dalszych części niniejszej pracy.

Laura Kaufman stwierdza na podstawie preparatów histologicznych, że u aksolotli, które przeszły metamorfozę dzięki podaniu tyreoi-

dyny, gruczoł tarczycowy jest bardziej rozwinięty niż gruczoł tych zwierząt przed przeobrażeniem. Z. M a y e r ó w n a wyróżnia tak w eksperymentalnie przyspieszonej jak i w normalnej metamorfozie u płazów żyjących w warunkach normalnych, w stadium larwy fazę nieczynną gruczołu tarczycowego, a w stadium metamorfozy fazę czynną tegoż gruczołu. Według jej poglądów gruczoł dorosłych przeobrażonych płazów powinien być również nieczynny. Poglądy te zgadzały się z zapatrywaniami Hirschlera, który transplantuując skórę traszek larwalnych na osobniki przeobrażone (oraz ogony kijanek na żaby), zaobserwował, że tylko na osobnikach niedawno po metamorfozie (dwa tygodnie) w transplantatach zachodziła metamorfoza, natomiast na osobnikach starszych i dorosłych w transplantatach nie zachodziły żadne zmiany nawet po dłuższym czasie (cztery miesiące). Tutaj jednak muszę streścić ważną pracę S. S ł o w i k o w s k i e j nad znaczeniem gruczołu tarczycowego płazów dla ich własnej metamorfozy. Wedle tych badań gruczoł tarczycowy płazów jest czynny począwszy od stadium najżywszej metamorfozy do końca życia. Natomiast w okresie poprzedzającym metamorfozę nie wykazuje aktywności. Implantacja gruczołu tarczycowego larwy w stadium najżywszej metamorfozy lub żaby dojrzałej do organizmu kijanki, przyspiesza i wywołuje metamorfozę, wstrzymuje jednak wydatnie rozwój jej własnego gruczołu tarczycowego, natomiast implantowany gruczoł ulega w organizmie gospodarza powolnej resorbcji. Jest to bardzo ważny fakt. Zawartość implantowanej tarczycy jako bodziec dla układu siateczkowo-śródbłonkowego (w świetle moich badań), wystarcza do przeprowadzenia metamorfozy, natomiast zastąpienie czynności tarczycy gospodarza powoduje wstrzymanie rozwoju tejże. Obok procesów litycznych, które tak dominują w metamorfozie występują tam jednak i procesy twórcze, które warunkują rozwój szeregu organów. Jak wynika z badań Słowikowskiej tarczycy kijanek implantowana na kijanki równowiekowe nie przyspiesza metamorfozy. A więc rozpoczęty proces metamorfozy innym bodźcem układu siateczkowo-śródbłonkowego w swej twórczej czynności zwiększa również pracę gruczołów wewnętrznego wydzielania, a te rozpoczęty proces metamorfozy aktywują w dalszym ciągu.

Układ siateczkowo-śródbłonkowy (w danym wypadku jego elementy: fagocyty) może być eksperymentalnie stymulowany (podaję wedle K. K l e c k i e g o), odpowiednią dozą ciepła, promieni Roentgena lub radu, hormonem tarczycy, drażnieniem nerwu współczulnego oraz nerwu błędnego wreszcie pozajelitowym wprowadzeniem do ustroju metalów koloidalnych, obcego białka, różnych szczepionek lub upustem krwi (odczyn występuje w kilka dni po krwotoku). Jednak wszystkie te bodźce muszą być odpowiedniej miary. To odnosi się do sztucznego pobudzania układu sia-

teczkowo-śródbłonkowego. Jak jednak wygląda sprawa w czasie naturalnego procesu metamorfozy? Wedle badań Słowikowskiej jak już powiedziano wyżej, tarczycza dopiero w stadium najżywszej metamorfozy jest silnie czynna. Jej więc działalność dopiero w tym stadium może aktywować czynność układu siateczkowo-śródbłonkowego, a więc uruchomienie metamorfozy musiało się rozpocząć przez bodziec innego rodzaju. Oczywiście czynność samej tarczycy jest aktywowana przez hormon tyreotropowy przedniego płata przysadki mózgowej. Że nie tylko przysadka mózgowa działa na tarczycę, ale i odwrotnie i to w związku z innymi gruczołami wewnętrznego wydzielania, świadczy o tym następujący fakt (cytuje wedle Słowikowskiej): „ekstyrpacja gruczołu tarczycowego u kijanek wywołuje hipertrofię gruczołu przytarczycowego i hyperplazję przysadki mózgowej (*hypophysis*), jądra rozwijają się, są zdolne do wytwarzania spermatozoów, ale nie rozwijają się jajowody, ani dojrzałe jaja, z czego wynikałoby, że w rodzaju żeńskim nie możnaby tym sposobem dojść do osobników neotenicznych“. Sama jednak aktywność tarczycy dojrzałej (Słowikowska) nie wystarcza do uruchomienia metamorfozy (doświadczenia z transplantacją Hirschlera), istnieć muszą naturalne czynniki hamujące. Wśród opisanych w literaturze czynników osłabiających fagocytozę wspomnę: anizotonia środowiska, zmiany w obu kierunkach stężenia jonów wodorowych, zmiany temperatury, światło zwłaszcza promienie ultrafioletowe, CO₂ w znacznej ilości, jod, antypiryna i różne inne środki przeciw gorączkowe itp. Są to te same środki, które również w innej tylko dawce pobudzają czynność układu siateczkowo-śródbłonkowego. A w odniesieniu do naszego zagadnienia to przecież wszystkie te czynniki możemy odnaleźć wśród bodźców wyzwalających metamorfozę płazów neotenicznych: wyciąg z tarczycy, kwas salicylowy (antypiretyk), jod, wpływ temperatury, dopływ powietrza (nadmiar CO₂) i t. p.

W medycynie stosuje się w pewnych wypadkach niedoczynności tarczycy jod względnie sól jodową z wynikami dodatnimi. Dawki jodu pobudzają tarczycę do normalnej czynności. W przypadkach ciężkich uzyskiwano czasami wyzdrowienie podawaniem substancji tarczycy lub zastrzykami tyroksyny. W czynności tarczycy obserwujemy również procesy wyrównawcze. Jeśli zostaje usunięty jeden płat tarczycy to drugi rozrasta się i powiększa. Natomiast zastrzyk tyroksyny wstrzymuje wydzielanie się hormonu. Niektóre substancje (np. witamina C) działają antagonistycznie na tarczycę i wywierają wpływ regulujący na produkcję jej wchłonu.

Jak widzimy, wiele mamy już faktów dających się zgodnie interpretować, są również i takie, które pozornie zdają się z sobą nie zgadzać,

wreszcie wiele luk czeka na wypełnienie. W odniesieniu do metamorfozy normalnej płazów możliwe, że jej rozpoczęcie w ustroju uwarunkowane jest tym, że procesy kataboliczne, wprawdzie w tym okresie życia o wiele mniejsze od anabolicznych, stale narastają i doszedłszy do pewnego poziomu są bodźcem bezpośrednim dla układu siateczkowo-śródbłonkowego, ten zaś pociąga za sobą układ gruczołów wewnętrznego wydzielania i układ nerwowy autonomiczny, przy równoczesnym przyjmowaniu od obu tych układów odpowiednich bodźców, przy ich wzajemnym na siebie oddziaływaniu. Tak więc jest to pewne koło, które w normalnych warunkach pod wpływem naturalnego bodźca rozpoczyna swój obrót, dający w efekcie metamorfozę. Możliwe również, że działają tu pewne bodźce kumulatywne. Tutaj wspomnę o eksperymencie przeprowadzonym przeze mnie, a ilustrującym działanie kumulatywne bodźców. Znane jest doświadczenie R o m e i s' a, który trzymając kijanki w słabym roztworze jodu w jodku potasu, otrzymał nieznaczne przyśpieszenie metamorfozy. Otóż udało mi się wyzwolić proces metamorfozy u aksolotla kumulatywnym działaniem dodawania pewnej ilości jodku potasu przez pewien czas do wody i częściowym blokowaniem układu siateczkowo-śródbłonkowego czerwienią obojętną. Dozy użyte, niezależnie od siebie, były poniżej progu pobudliwości. Po przerwaniu stymulacji, był dłuższy okres bezobjawowy, po którym nastąpiło wyzwolenie się metamorfozy, który to proces przebiegał tak szybko, że zwierzę w ciągu pięciu dni zginęło.

Prawdopodobnie w naturalnej metamorfozie działa bodziec, który jest wypadkową zespołu warunków wewnętrznych organizmu. Jeśli zaś weźmiemy pod uwagę eksperymentalne przyśpieszenie metamorfozy u płazów normalnie się przeobrażających, czy też wyzwolenie metamorfozy u płazów neotenicznych, to poruszenie tego koła zdaje się być możliwe w rozmaitych punktach, czy to od strony układu gruczołów wewnętrznego wydzielania, czy też układu siateczkowo-śródbłonkowego, czy też układu nerwowego autonomicznego, chodziłoby tylko o znalezienie odpowiedniego bodźca i odpowiedniej dawki. Kończę ten rozdział swej pracy postawieniem problemu.

Lublin, 5 maja 1947.

Zbigniew Stuchly

Researches on the Metamorphosis of Amphibians

Part I.

The eliciting of the metamorphosis in axolotls by means of a quantitative blocking of the reticulo-endothelial system with an indifferent factor.

1. Problem.

If we take as a criterium of division the natural capacity for metamorphosis, it would be possible to divide the amphibians into certain physiological groups (Zb. Stuchly).

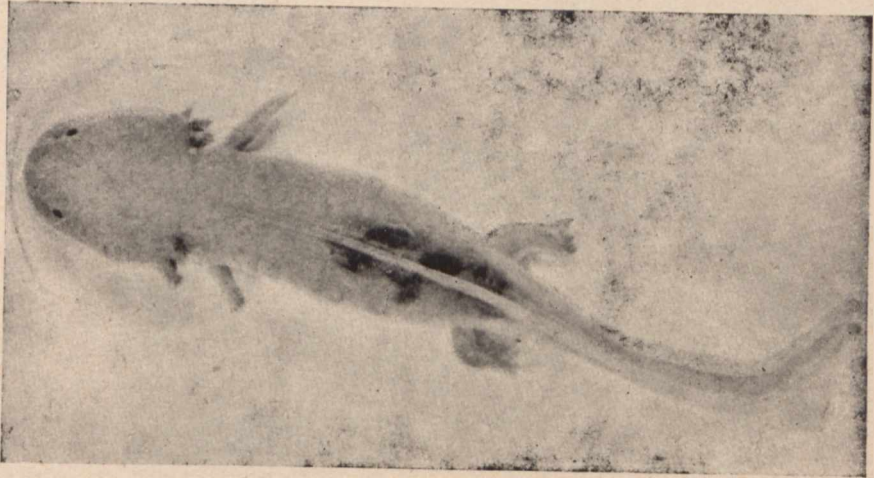
In the first group we shall place amphibians which undergo metamorphosis and attain their sexual maturity as fully grown-up form (a. e. *Rana temporaria*).

The second group contains amphibians which under certain circumstances are subject to temporary arrest or retardation of their metamorphosis, together with a more or less strong development of gonades (a. e. *Pelobates fuscus*).

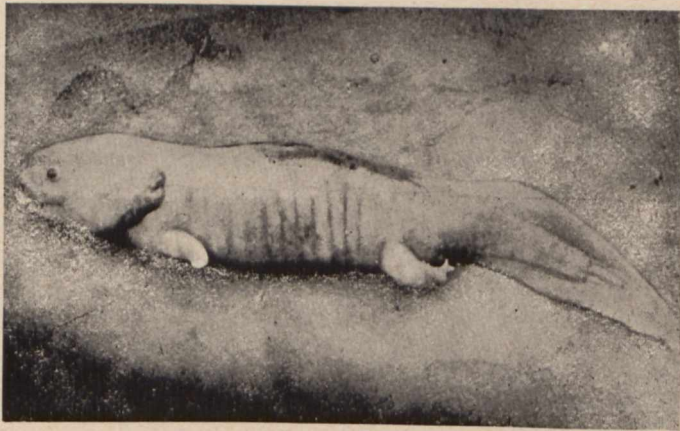
The third group is formed by those amphibians which undergo an abbreviated development, called tachygenesis. According to conditions this shortened development can be more or less marked. In its final state a fully developed form can be bred straight out of the egg. In some cases definitive forms are born alive, a. e. *Salamandra atra*, as well as highly developed larvae: a. e. *Salamandra salamandra*.

In the fourth group we can place neotenic amphibians, which undergo metamorphosis only under special conditions: usually they retain their larval form during the whole of their life. An example of this is the axolotl, *Ambystoma mexicanum*.

The fifth group contains neotenic amphibians which never underwent metamorphosis, and the final forms of which are unknown to

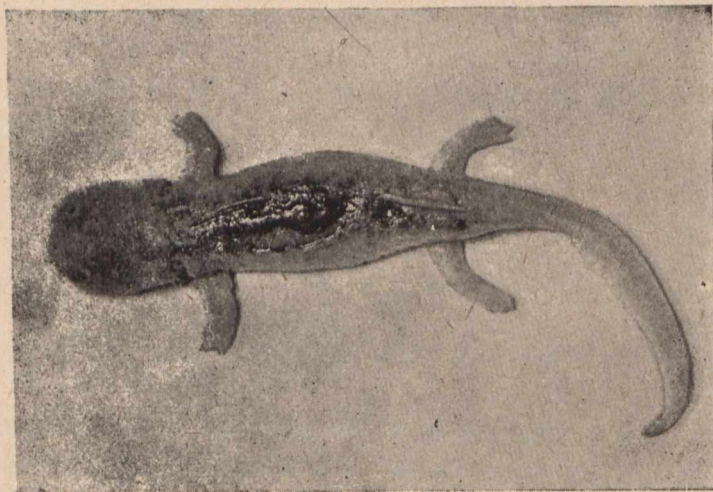


Fot. 1

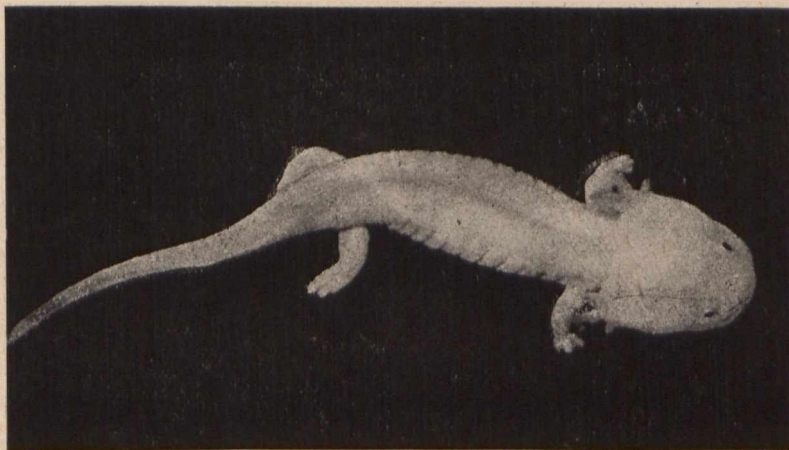


Fot. 2

Zbigniew Stuchly



Fot. 3



Fot. 4

Zbigniew Stuchly

natural history and never could be obtained in laboratory conditions.
Ex. *Proteus anguineus*.

This division is not a systematic one, it rather is a draft meant to show the great variety and plasticity in the development of amphibians.

The first experimental investigations concerning the mechanism of the metamorphosis of amphibians, were made by G u d e r n a t s c h in 1912. By feeding tadpoles on fresh thyroid glands of cattle he succeeded in hastening considerably their metamorphosis.

In 1913, owing to the same method B á b á k changed an axolotl into the *Ambystoma*.

These researches can be divided into two groups of problems:

- 1) We must become acquainted with the mechanism of the metamorphosis in amphibians;
- 2) We must discover the factors which elicit the metamorphosis in neotenic amphibians.

Respecting the first group of these problems we already know as a rule that the metamorphosis of amphibians is conditioned by the hormon of the thyreoidea which is secreted under the influence of the thyreothropic hormon of the epiphysis.

On the other hand the factors or stimuli that elicit the metamorphosis in neotenic amphibians can be divided into the following groups:

- 1) Physical factors: the influence of temperature, the supply of air, the regulation of the amount of water (C h a u v i n, S h u f e l d t);
- 2) Chemical factors: Salicilic acid (L a u r a K a u f m a n), Iodine and iodic compounds (H i r s c h l e r);
- 3) Biochemical factors: thyroidine (L a u f b e r g e r, L. K a u f m a n).

Here we must stress that such a biological factor as starvation may influence the process of metamorphosis of amphibians in various ways. Starvation alone does not elicit metamorphic processes in neotenic amphibians.

In amphibians undergoing a normal metamorphosis, treatment by starvation, when applied after the metamorphic process has begun, accelerates it in a visible way; on the contrary, starvation before the beginning of the involution of larval organs has a restraining influence on metamorphosis.

The involution of the larval organs during the metamorphic process depends on simultaneous histolysis and phagocytosis. Histolysis depends on the presence of certain bodies in the organism of the animal in question.

We shall not speak about the nature of those bodies nor of the course of the histolytic reaction but we must stress its special character. Only certain cells, tissues and organs of the larval organism undergo histolytical processes, while others resist them. Therefore it must be admitted that the tissues in amphibians possess a certain genetic inclination in correlation with histolysis and with the permanence of some tissues in the process of metamorphosis.

Bodies that are active factors in histolysis as well as the Phagocytes during Phagocytosis show a special sense of choice. The histolytical process is humoral, the Phagocytosis instead is a cell-process which has to do not only with the Phagocytes but also with the entire cell-system to which the phagocytes themselves also belong. This system, also known as histocitar or system of active mesenchyma is defined by us as the reticuloendothelial system. It was discovered through a method of vital staining and has the capacity of catching and devouring albuminous bodies. Through internal digestion in the cells it plays a part in the metabolism.

There are several ways of classifying the elements considered to be parts of the reticuloendothelial system: in general all the cells disseminated in the organism, in the tissues as well as in fluids, and which have the capacity to undergo phagocytosis are bound up in one unity.

The reticuloendothelial system derives from the mesoderma or in sensu stricto from mesenchyma. The mammiferae possess great agglomerations of those elements in the spleen (lien) and birds in the liver. Cells belonging to this system have the capacity to gather besides vital stains also electronegative colloidal bodies, China-ink and so on, but to a certain extent only. After this limit is passed, they begin to let out the foreign element; we call this phenomenon the blocking of the reticuloendothelial system. If we cease to introduce the blocking factor, after a certain time the organism starts to free itself of the intruder. If, in spite of the signs of saturation we do not stop giving the blocking factor, the reticuloendothelial system gets completely blocked and this is invariably followed by the death of the specimen subjected to the experiment.

The blocking of the reticuloendothelial system of some animals by means of one factor (a stain) up to the moment, when the system begins to let it through, does not exclude the possibility of blocking it again with another factor (a. e. a colloidal solution), which will be caught up by the system up to the moment of saturation. The blocking factor stimulates the functions of the reticuloendothelial system: first of all by increasing the multiplicative faculties of its elements and the „devouring“ possibility of the cells, as well as the multiplication of special bodies which are its products; the increased activity of the system has a notorious

influence on the whole organism. Of course the phenomena that can be observed in the organism, may sometimes be provoked only indirectly by the reticuloendothelial system, because the latter can act directly on the vegetative system or on that of the glands of internal secretion. Probably there can be no process in the organism without a reaction of the reticuloendothelial system. Without going into problems of pathology and therapia for men or animals in cultures, we must nevertheless remember that some of the reactions of the reticuloendothelial system are favourable for the organism and others are not (after T. Żuliński and J. Zadura): the fact of blocking the reticuloendothelial system in a rabbit provokes the diminution of the quantity of fibrinogen in the animal's blood, and reduces its power of coagulation; for a second example: cases of syphilis, are treated first with mercury, then with antimonium and at last with arsenic and bismuth. Those products do not directly kill the germs, they just stimulate the reticuloendothelial system to stronger resistance. The defensive processes of the organism are elicited by the stimuli which are acting on the reticuloendothelial system. Generally it is easier to increase the activity of the system through the blocking method, than to paralyse it. Some factors however are able to restrain and even to partly paralyse the activity of the reticuloendothelial system. Such factors are: excessive exposure to Roentgen-rays, avitaminosis (the experimental scurvy of guinea-pigs, experimental rice-sickness of pigeons), the extirpation of the thyroidea, increased blocking of the system, in certain cases also the extirpation of the spleen (lien). As to the factors which stimulate the reticuloendothelial system, we know that there exists a certain degree of sensitiveness special to each organism, an optimum of activity -- and, on the contrary -- a paralysing effect when the activity of the stimulating factors is excessive. And so the same factors, which act as stimuli when administered in a certain dose, may, by way of overdosing, reduce some of the functions of the reticuloendothelial system, a. e. the phagocytosis. Also different kinds of blocking elements have different ways of gathering in some parts of the reticuloendothelial system and the way in which the foreign factor is expelled depends on the sort of organism and its fitness at the time being.

2. My own experimental investigations.

The purpose of these researches is to throw some light on the relation existing between the reticuloendothelial system and metamorphosis. The experimental analysis of the part played by the reticuloendothelial system in the course of the metamorphosis of amphibians, should be divided into

certain experimental groups, relatively to the scientific method used, as well as to the sort of animals experimented upon.

I want to relate in this place some of my experiments, which may elucidate to a certain extent this interesting problem.

I made this experiment upon axolotls (*Ambystoma mexicanum*), big neotenic specimens, the smallest of which measured 20 — and the biggest 25 cm. from mouth to tail. I made use of 16 animals for this purpose, 8 of which were white and the other 8 black specimens.

For these investigations I used the following factors:

- 1) 1% solution of indifferent red in isotonic fluid;
- 2) 1% solution of tripan blue in isotonic fluid;
- 3) Solution of China-ink.

Na Cl used for preparing the isotonic fluids was chemically pure (free of iodine).

I employed two sorts of China-ink; the best for my purpose proved to be China-ink „H“ for Burri method, made by Hollborn & Söhne, Leipzig — with the addition per 10 ml. 80 mg. Na Cl.

From all three reagents used by me during those experiments: indifferent red, tripan blue and China-ink, the latter proved to be the most profitable. The first two mentioned showed to have too toxic an influence, especially the tripan-blue, which nevertheless is first-rate for blocking.

As I did not want to introduce the blocking factor through the alimentary canal I made injections: subcutaneous, endocutaneous and directly into the peritoneum. For this treatment I used a syringe „Record“ holding 1 ml, and the smallest possible needle for injections. I made them all without narcosis. The subcutaneous injections were made into the back on both sides of the dorsal fin in the vicinity of the loins in the direction of the animal's head.

The endocutaneous injections were made into the dorsal or caudal fin starting from the back in the direction of the tail. In this case the deposited factor produced a vesicle. A well-made injection must be done quickly and all at one time, to save pains to the animal.

The purpose of those first investigations was to elucidate the following questions:

1. What course takes a partial blockade of the reticuloendothelial system in the case of the axolotl; 2. How does it get to a complete blocking which is invariably followed by the animal's death; 3. In what way does the organism clean itself from the blocking factor.

First of all I became convinced that the gradual increasing of the blockade in the case of the axolotl has quite another aspect than in the case of the mammals (rabbits); with the axolotls the gradual steppings

from partial blocking through the moment of saturation (letting through) into the state of complete blocking of the reticuloendothelial system, are extremely difficult to observe, so that it may happen that the same dosing proves to be either too heavy or too scanty for two animals while in the same laboratory conditions.

The time required for the resorption also varies. If we introduce an equal quantity of blocking factor into the peritoneum of two axolotls of the same size, the resorption may not be achieved in the same length of time. In spite of identical outward colouring the dissection shows us in one case a complete resorption, while in the other case a greater amount of the deposited factor is still to be detected.

In the process of partial blocking, the expelling of the foreign factor from the organism is liable to occur in different ways. Some specimens eliminate great quantities of slime (mucus), which carries away the blocking factor in a rather short time. In some other animals the partial blocking of the reticuloendothelial system causes a lasting feebleness which persists during the process of gradual cleaning itself of the organism from the foreign factor.

Such differences in the reactions as just described, are often to be met when we administer equal doses of identical factors to animals of the same kind and size in similar laboratory conditions.

Tripan blue, when given in a somewhat larger dose (ex. entire dose: 1 ml of 1% isotonic solution in the peritoneum) causes after some time blood-oozing in the alimentary duct, after the factor has been entirely resorbed. The indifferent red is rather slow in producing blocking and is also expelled at a slow pace. The hypotonic solution is more easily expelled than the isotonic one. The isotonic factor proved to be the most suitable for the purpose of blocking the reticuloendothelial system. But we must remember that the act of blocking is not the essence of the problem in question, the most important point is the reaction of the reticuloendothelial system to the stimulus of partial blocking. We can clearly see that judicious dosing of the same factor, can depending on its quantity, elicit all sorts of active states of the reticuloendothelial system. These processes are the cause of various reactions in the whole organisms.

To illustrate this I shall relate one of my experiments, which resulted to be of special importance.

The experiment was made upon axolotls.

The animals experimented upon were:

Axolotl Nr. 9, a white female, length 21 cm., weight 74 gr.

Axolotl Nr. 10, a white female, length 20 cm., weight 67 gr.

1st day of observation:

Axolotl Nr. 9 and Axolotl Nr. 10 a subcutaneous injection of China — ink (0,1 ml. isotonic sol.).

9th day of observation:

Axolotl Nr. 9 and Axolotl Nr. 10 a subcutaneous injection of China — ink (0,1 ml.). At the spot where the injection has been made appears a dark colouring which forms on both sides of the back regularly shaped triangular stains. The tops of those triangles are turned towards the back on both sides of the fin. The place where the injection was made remains as a darker spot on the dark background.

14th day of observation:

Axolotl Nr. 9 and Axolotl Nr. 10: Obvious changes appear in both animals: reduction of the gills, flimsiness of the fin on back and tail, diminution of the fingers, especially of the fore-paws.

19th day of observation:

Axolotl Nr. 10: On the animal's back, at the place of the injection, an intense sealing off, of the epidermis stained with China-ink.

Axolotl Nr. 9: Considerable lithic alterations in the left fore-paw, of which the fingers have disappeared completely. On the hind paw the involutory processes continue; they are of lithic not necrotic nature. It sometimes happens, that axolotls have under-developed fingers — especially on their fore-paws. Accidentally some of their fingers are bitten off. This was not the case with those animals — they all had normally shaped paws and fingers. The fin on back and tail becomes more flabby, it is full of blood, especially at the end of the tail. The length of the animal is reduced by about 0,5 cm. On the spot of the injection we see a round scar. At the place in which the China-ink was introduced it forms under the skin a sort of oblong, black vesicle, bigger on the right side and smaller on the left, which is visible on the background of the darkly stained back on both sides of the fin near the back-bone.

21st day of observation:

Axolotl Nr. 10: the scaling of the epidermis stained with China-ink continues.

Axolotl Nr. 9: the lithic processes are in full progress, — the animal's length has diminished (by 0,5 cm.) the tail becomes much smaller, as well as the rest of the fingers. Further reduction of gills and fin; exophthalmia, the head loses its spade-like shape and takes on a more oval one.

The animal died — it was photographed at 3 p. m.; its dissection was made and some of its organs were preserved for the purpose of histological researches.

33rd day of observation:

Axolotl Nr. 10: The metamorphosis continues, scaling off of the epidermis on the whole body.

35th day of observation:

Axolotl Nr. 10: The scaling off of the epidermis continues, especially on the spot of the injection — the fin disappears in this place. On the whole surface of the body we observe some small blisters; this proves that the epidermis has entered the stage preceding the moult.

In the afternoon of the same day, at the same place on the back where the skin had lost its epidermis, and was damaged, there is a break of a blood-vessel and a small haemorrhage ensues. I then lowered a little the water level, so as to maintain the animal's back above it, while head and gills are still in the water. After a few hours the wound had dried up and the effluence of blood had stopped, but some lymph was still oozing from the wound.

The animal's behaviour at that time is rather strange; it does not move its gills in the water, but raises himself, sticks his head out of the water and gulps the air with his mouth.

36th day of observation:

Axolotl Nr. 10: From the whole surface of the body the epidermis has fallen off in small flakes, there is a continued contraction of the gills and fin, and through the skin of the tail its gradually ossifying skeleton can be clearly seen.

37th day of observation:

Axolotl Nr. 10: On account of the continued contracting of the gills and fin, the head gradually changes its shape. The animal gasps for air — I reduce the quantity of water.

38th day of observation:

Axolotl Nr. 10: The epidermis has scaled off completely by now, the metamorphic process continues. Intense plethora in the tail and fin. In the tail we see plainly the ossifying process of the vertebrae. The animal is very feeble, it turns its tail to one side. The shape of the whole body changes. The animal begins breathing also with its lungs emitting at times a sort of sound. The skeleton of the fingers in the hind paws is also ossifying distinctly- while the fore-paws do not show any change since they have at first contracted.

39th day of observation:

The contraction of the gills and fin is intensified, the head loses its spade-like shape taking on instead an oval one; at the spot of the injection the lysis of the skin becomes so intense, that the muscles of the back and the remainder of the China-ink become visible. The surface of the skin on

head and back is very red. The dorsal fin has by this time nearly entirely disappeared.

41st day of observation:

Axolotl Nr. 10: the animal has taken no food.

42nd day of observation:

Axolotl Nr. 10: The metamorphosis has progressed. There is a marked withering of the fin and gills as well as of the skin at the place of the injection. The animal is very feeble. No reduction of the length of its body. The animal died at 9 p. m., it was photographed and some of its organs were preserved for the purpose of histological investigations. At the same time the control specimen was also photographed: Axolotl Nr. 12, a white female of 22 cm length, weight 65 gr. bred in the same conditions during a period of 123 days of observation, does not show any symptoms of metamorphosis.

By way of comparison I am giving here also my observations made on Axolotl Nr. 4, a black male of 23 cm. length and 100 gr. weight.

1 st day of observation --- 0,1 ml. of China-ink subcut. injection

2nd " " " --- 0,1 " " " " " "

3rd " " " --- 0,1 " " " " " "

5th " " " --- 0,1 " " " " " "

7th " " " --- 0,1 " " " " " "

9th " " " --- 0,1 " " " " endocut. "

12th " " " --- 0,1 " " " " " "

118th " " " --- no signs of metamorphic changes can

be detected, no traces are left of the subcutaneous injections, while at the place of the endocutaneous ones there only are well healed little scars like tiny blisters.

During this experiment the minimum temperature of the air in the laboratory was $+ 10^{\circ} \text{C.}$, the maximum $+ 20^{\circ} \text{C.}$

The animals experimented upon as well as those used for the purposes of control were kept all the time in a sufficient quantity of water to cover them entirely. The water was changed daily except on Sundays. Its temperature, while fresh from the tap, varied, depending on the weather, between $+ 5^{\circ} \text{C.}$ to $+ 10^{\circ} \text{C.}$ The animals were abundantly fed on fresh meat (pork or beef) twice a week.

Axolotl Nr. 9 and Axolotl Nr. 10 each received a total of 0,2 ml. of China-ink, Axolotl Nr. 4 received a total of 0,7 ml. of China-ink. The difference in the reaction on the same stimulus by the Axolotl Nr. 9 and the Axolotl Nr. 10 should not only be attributed to the individual reaction of each of these organisms to identical doses — a phenomenon which I have observed also in other cases of experiments of blocking the reticuloendo-

thelial system — but the real cause in this case is to be sought in the difference of the dose which arose spontaneously in the course of the experiment. Axolotl Nr. 10 had both injections made in the back in the vicinity of the dorsal fin; in this place the epidermis saturated with China-ink came off several times, in that way some of the blocking factor being eliminated and the whole process being caused to take a slower course.

On the contrary the Axolotl Nr. 9 had his injections made farther of the fin and a little deeper, so that nothing was eliminated by way of the skin, and therefore the larger quantity of the stimulus caused the process to take a more intensive course. But in both cases the violence of the lythic processes lead to the death of the animals.

The controlling experiment shows that it is the quantity of the stimulus and not its quality that is of essential importance. I have observed the same phenomenon when I blocked with tripan blue; a small dose did not call forth any reaction whatsoever — a certain dose was successful, while larger doses hampered altogether the process which had already begun. Tripan blue is not an indifferent factor and has, as have all the stains used for blocking the reticuloendothelial system, some incidental effects. China-ink is an indifferent factor, especially when used as isotonic fluid, because the hypotonic and hypertonic fluids are not indifferent for the reticuloendothelial system.

The results of these experiments show us that we have here an experimental eliciting of metamorphosis in the axolotl by means of a quantitative blocking of the reticuloendothelial system with an indifferent factor. It is obvious that the exact measure of the dose required to lead to a complete metamorphosis, should be found out by experimenting on a sufficient number of animals. After that it is necessary to put to the test the effect of other indifferent factors able to block the reticuloendothelial system, and finally we must ascertain the effect of the same factors on other kinds of amphibians (I am just working out this problem). If those investigations will succeed in confirming the previous observations, then to wellknown physical, chemical and biochemical factors we shall be able to add a purely biological one, which can elicit metamorphosis in neotenic amphibians.

Here I must remind the reader that grown-up axolotls do not transform easily and many of them die during this trying experience. An adequate dosing of the factor which elicits metamorphosis is equally of great importance. During the first experiments made by Laufberger (administering of fresh thyroid gland without any dosing) all the animals experimented upon died. Here I mention incidentally that a highly per

cent of normally moulting animals die in the breeding laboratories in the course of the metamorphosis.

In Hirschler's work about eliciting metamorphosis by parenteral administering of simple iodine compounds, on two cases described, one animal died before the completion of the metamorphosis, and about the other he says that „it is rather an ambystoma than an axolotl“, but he doesn't tell us how long this specimen lived after its metamorphosis. In the researches of G u d e r n a t s c h and R o m e i s made upon tadpoles, we see that the animals did not live long after their accelerated metamorphosis. It was not until Laura K a u f m a n had worked out her method (strict dosing of thyroidine tabloids) that full metamorphosis could be achieved. We know that all the factors by means of which metamorphosis is brought about, act more or less as stimuli which can set in movement a mechanism existing in the organism experimented upon. Hirschler realised this fact when he wrote (in 1920): „experimental researches exclude the possibility, that the thyroidal substance, when introduced in the larval organism, may act in a histo- or cytolythic way. But considering the fact that the histo- and cytolythic processes play a prominent part in metamorphosis, we must consider the thyroidal substance as a factor which, in a way not yet well known, only activates the lythic ferments“.

3. General treatings.

We now get to the question how to imagine the whole mechanism of the metamorphosis, especially when considered in the light cast upon it by the experimental researches we have just described.

I propose the following hypothesis to be worked upon:

The reticuloendothelial system is the immediate performer of the process of metamorphosis, by producing the lythic ferments and by the phagocytar activity of its elements. This system is activated by the system of the glands of internal secretion. The activity of both those systems: the reticuloendothelial system and that of the glands of internal secretion is connected with the activity of the autonomic nervous system. These three systems are strictly dependent on each other and there exists between them a sort of dynamic balance, the disturbance of which may cause in the organism all sort of changes, in its activities as well as in its anatomy, of physiologic as well as of teratologic and patologic nature, and especially so in the course of morphogenetic processes, of which metamorphosis is one of the most important. In neotenic animals there is a certain balance between the factors that hamper and those that elicit metamorphosis.

The partial blocking of the reticuloendothelial system intensifies the phagocytosis of its cells and the lythic abilities of the system. With regard to the stimulus used we can admit two possibilities: either the elicited lythic process, the intensity of which exceeds normal lysis in the metamorphosis (ex.: in Axolotl Nr. 9 not only did the web between the fingers disappear but so did the fingers; in Axolotl Nr. 10 lysis of the skin on the back) intensifies also indirectly or directly the activity of the thyroid — or, in other cases — an unusually violent lysis which is connected with the catching up and eliminating of the blocking factor, sweeps away all resistance, so that even only a slight activity of the thyroid is enough to let the metamorphic process take place. We must mention here particularly creative processes in the metamorphosis, ex. the ossifying of the skeleton. Involutionary processes involved by the activity of the reticuloendothelial system are increased by the experimental stimulus. Which of these possibilities is to be accepted can be decided by observing the thyroid during the whole course of this process. This however will be treated in a later part of this work.

Laura Kaufman basing herself on histological preparations, states that in axolotls, which have undergone metamorphosis, owing to the administering to them of thyroidine, the thyroid gland is better developed than is this same gland in the same animals previous to their metamorphosis. Z. Mayer states that as well in the metamorphosis experimentally accelerated, as in normal metamorphosis of amphibians living in normal conditions, there occurs in the larval stage a period of inactivity of the thyroid gland, and in the stage of metamorphosis — a phase of activity of this gland. In her opinion the gland of fully grown amphibians which have undergone metamorphosis, should also be inactive. This opinion is conform to the opinion of Hirschler, who, by transplanting the skin of larval tritons (*Triturus*) on animals which had undergone metamorphosis (as well as the tails of tadpoles on frogs), observed that metamorphosis took place on the transplanted organs only when transplanted on animals which had undergone their metamorphosis a short time before (two weeks) while on older animals and fully grown ones no changes could be detected in the transplanted parts even after a longer period of time (up to four months). Here I must give a brief account of the important work of S. Słowicka, on the importance which the thyroid gland of the amphibians has for their own metamorphosis. According to her observations the thyroid gland of amphibians is active from the moment in which the metamorphosis reaches the stage of its greatest intensity up to the end of their lives, while during the period preceding their metamorphosis it does not show any activity. The implan-

tation of the thyroid gland of a larva in the stage of the most intense metamorphosis or of a mature frog into the organism of a tadpole, accelerates and brings about its metamorphosis, but hinders considerably the development of its own thyroid gland, while at the same time the implanted gland is subjected in the organism of the host to a slow resorption. This is a most important fact. The contents of the implanted thyroid as an impulse for the reticuloendothelial system — as seen in the light of my researches — is enough to complete metamorphosis, while the substituting of the hosts thyroid checks its development. Besides the lythic processes which play so dominating a part in the metamorphosis, there also appear some creative processes, which are the condition for the development of several organs. As results from the researches of Słowikowska, the thyroid of tadpoles implanted on tadpoles of the same age does not accelerate their metamorphosis. Therefore the metamorphic process which has already begun under the influence of another stimulus of the reticuloendothelial system, in its creative activity also increases the activity of the glands of internal secretion, and these give a further impulse to the metamorphic process already begun.

The reticuloendothelial system (in this case its elements: the phagocytes) can be stimulated by way of experiment (according to K. Klecki) by an adequate dose of warmth, of Roentgen rays or radium, by the hormon of the thyroid gland, by irritating the sympathetic nerve as well as the nervus vagus and lastly by extravisceral introduction into the organism of colloidal metals, of foreign albumin of various serums or by phlebotomy (the reaction appears several days after the haemorrhage).

All these stimuli must be adequately measured. This refers to the artificial stimulation of the reticuloendothelial system. But what is the aspect of all these questions in the case of natural metamorphic processes? According to the researches made by Słowikowska, as mentioned above, the thyroid is intensively active only at the culminating stage of metamorphosis. Its influence therefore is unable to stimulate the activity of the reticuloendothelial system at an earlier time and the metamorphosis must have been started by some stimulus of another kind. It is obvious, that the activity of the thyroid itself is stimulated by the thyreotropic hormon of the anterior lobule of the epiphysis. That not only does the epiphysis act on the thyroid but also vice versa, and that it does so in connection with other glands of internal secretion, is proved by the following fact (which I quote according to Słowikowska): „the extirpation of the thyroid gland of tadpoles causes hypertrophy of the glandulae para thyroideae and hyperplasia of the hypophysis, the testicle develops and is enabled to produce spermatozoons, but the ovary ducts

do not develop nor do mature ova, to judge by which fact it would seem, that in the female sex one could not in this way procure neotenic individuals". But the activity of the mature thyroid (Słowińska) is not in itself sufficient to start the metamorphic process (experiment with transplantation made by Hirschler): there must exist some natural hampering factors. From among the factors tempering phagocytosis described in literature I shall mention: anisotonia of the surrounding, changes in both directions, concentration of the hydrogenic ions, changes of temperature, light, especially ultraviolet rays, CO₂ in great quantity, iodine, antipyrin and various other febrifuges and so forth. They are the same appliances which — when given however in a different dose — also stimulate the activity of the reticuloendothelial system. And with regard to our problem we can find all those factors among the stimuli which liberate the metamorphic process in the neotenic amphibians: extract of thyroid, salicylic acid (antipyrin), iodine, influence of the temperature, supply of air (excess of CO₂) and others.

In medicine, in some cases of the underactivity of the thyroid, one makes use with good result of iodine or iodic salt. Doses of iodine stimulate the thyroid to accomplish its normal functions. In some serious cases recovery has been obtained by giving the substance of the thyroid or by injections of thyroxine. In the activity of the thyroid compensatory processes may also be detected. If one part of the gland is eliminated the other one starts growing and becomes much larger. An injection of thyroxine checks the secretion of hormone. Some elements (f. ex. vitamin C) have an antagonistic effect on the thyroid and regulate the production of the hormone.

As is to be seen now, we have already become acquainted with a number of facts concurring with each other, but there are others which apparently cannot be brought to harmonize and many gaps still remain to be filled. With regard to the normal metamorphosis of amphibians, it is possible that its originating is conditioned by the fact that catabolic processes — though in that period of life much slighter than the anabolic ones — increase constantly and after reaching a certain level constitute a direct stimulus for the reticuloendothelial system, and the latter is followed by the system of glands of internal secretion and by the autonomic nervous system, while it is simultaneously stimulated by both these systems owing to their reciprocal influence. We can compare the whole to a wheel, the movement of which gets started under normal conditions under the influence of a normal stimulus, and which in the end brings about metamorphosis. It is also possible that certain cumulative stimuli have some influence here. I would like to mention in this place an experi-

ment made by me which illustrates the cumulative effect of the stimuli. We are well acquainted with the experiment of Romeis; who by keeping tadpoles during a certain time in a weak solution of iodine in *cali jodati* slightly accelerated metamorphosis. I in my turn, succeeded to bring about metamorphosis in an axolotl by the following cumulative action: by adding a certain small amount of *cali jodati* to the water during a certain period of time, and by partly blocking the reticuloendothelial system by means of indifferent red. The doses used were — each one taken separately — below the quantity needed to act as stimuli. After the period of stimulating there succeeded a period of some length of inactivity after which metamorphosis began and its process was so intense, that the animal died after five days.

Probably in natural metamorphosis acts a stimulus which is the result of the sum of internal conditions of the organism. If we take now under consideration the experimental acceleration of the metamorphosis in amphibians which moult normally, or the bringing about of metamorphosis in neotenic amphibians, we may admit that it is possible to put the aforesaid wheel in movement from various points: either from the side of the system of glands of internal secretion, or else of the reticuloendothelial system, or from the autonomic nervous system; it only is a matter of finding out the adequate stimulus and the adequate dose. I end this part of my work by proposing this problem.

BIBLIOGRAFIA

1. Chauvin M. — Über die Verwandlung des mexicanischen Axolotl in *Amblystoma*. Zeitschr. wiss. Zool., 27, 1876.
2. Chauvin M. — Über die Fortpflanzung des *Amblystoma*. Zool. Anz., 6, 1883.
3. Chauvin M. — Über die Verwandlungsfähigkeit des mexicanischen Axolotl. Zeitschr. wiss. Zool., 41, 1885.
4. Gedroyć M. — Badania doświadczalne nad metamorfozą owadów. Arch. Tow. Nauk. we Lwowie. Dział III, 2, 1923.
5. Gudernatsch J. F. — Feeding Experiments on Tadpoles. I. The influence of specific organs given as food on growth and differentiation. Arch. f. Entwmech. 35, 1913.
6. Gudernatsch J. F. — Feeding Experiments on Tadpoles. II. A further contribution to the knowledge of organs with internal secretion. Amer. Journ. of Anat. 15, 1914.
7. Gudernatsch J. F. — Fütterungsversuche an Amphibienlarven. Vorläuf. Mitteil. Zentrbl. f. Physiologie, 1912.
8. Hirschler J. — O wywołaniu metamorfozy u axolotla przy pomocy jodu i doświadczeniach pokrewnych. Kosmos, Lwów, 1920.
9. Hirschler J. — O wpływie organów płazów przeobrażonych na metamorfozę larw płazich. Arch. Tow. Nauk. we Lwowie, 1922.
10. Hirschler J. — Über Erzwingung und Beschleunigung der Amphibienmetamorphose mittels Jod. Arch. für Entwicklungsmech. 60, 1922.
11. Kaufman L. — On the Metamorphosis of *Amblystoma mexicanum* Cope fed on Thyroidine. Akad. Umiejętności, Kraków, 1917.
12. Kaufman L. — Researches on the artificial Metamorphosis of Axolotls. Akademia Umiejętności, Kraków, 1918.
13. Klecki K. — Patologia ogólna. Tom II. Kraków, 1935.
14. Laufberger V. — O vzbuzeni metamorfosy axolotlu krmenim zlazou stitnou. Biolog. Listy, 2, 1913.
15. Mayerówna Z. — Zachowanie się gruczołu tarczycowego płazów w okresie metamorfozy. Arch. Tow. Nauk. we Lwowie, 1923.
16. Romeis B. — Versuche zur Isolierung des Schilddrüsenhormones. Arch. für Entwmech, 50, 1912.
17. Romeis B. — Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung innersecretorischen Organe. II. Der Einfluss der Thyroidea und Thymusfütterung auf das Wachstum, die Entwicklung und die Regeneration von Anurenlarven. Arch. für Entwmech. Bd. 41, 1915.
18. Schufeldt R. — Mexican Axolotl and its susceptibility to transformation. Science, 6.

19. Słowikowska S. — Badania doświadczalne nad znaczeniem gruczołu tarczycowego płazów dla ich własnej metamorfozy. Arch. Tow. Nauk. we Lwowie, 1924.
20. Żuliński T., Zadura J. — Istota i znaczenie układu siateczkowo-śródbłonkowego z uwzględnieniem własnych spostrzeżeń. Medycyna Weterynaryjna, Warszawa—Lublin. 1946.
21. Bábák E. — Einige Gedanken über die Beziehungen der Metamorphose bei den Amphibien zur inneren Sekretion. Zentr. f. Physiol. **27**, 1913.
22. Grzycki S. — Hemoglobina i jej pochodne a układ siateczkowo-śródbłonkowy skóry ludzkiej. Lek. Inst. Nauk.-Wyd., Warszawa, 1947.
23. Sembrat K. — Badania doświadczalne nad metamorfoza jelita kijanek płazów bezogonowych. Arch. Tow. Nauk. we Lwowie 1925.
24. Sembrat K. — Wpływ tarczycy ryb spodoustych i kostnoszkieletowych na metamorfozę kijanek płazów bezogonowych. Arch. Tow. Nauk. we Lwowie, 1929.
25. Weigl R. — Über homöoplastische und heteroplastische Hauttransplantation bei Amphibien, mit besonderer Berücksichtigung der Metamorphose. Arch. f. Entw. Mech., **36**, 1913.

OBJAŚNIENIE TABLIC.

EXPLANATION OF PLATES.

Tablica XV. Plate XV.

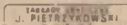
- Nr 1. Aksolotl Nr 9.
19 dzień doświadczenia. 19th day of experiment.
- Nr 2. Aksolotl Nr 9.
21 dzień doświadczenia. 21st day of experiment.

Tablica XVI. Plate XVI.

- Nr 3. Aksolotl Nr 10.
42 dzień doświadczenia. 42nd day of experiment.
- Nr 4. Aksolotl Nr 12, kontrolny, the control specimen.
123 dzień obserwacji. 123rd day of observation.

Fotografował Stefan Kielsznia. Lublin.

Nakł. 800.61×86 V kl. 80 g


 J. PIETRZYKOWSKI
LUBLIN

A-11515